



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**PŘÍPRAVA A APLIKACE NANOVLÁKEN A NANOČÁSTIC
NA BÁZI PHA**

PREPARATION AND APPLICATION OF PHA BASED NANOFIBRES AND NANOPARTICLES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Vojtěch Linha

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.

BRNO 2017

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP0940/2015
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Bc. Vojtěch Linha**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.**
Akademický rok: 2016/17

Název diplomové práce:

Příprava a aplikace nanovláken a nanočástic na bázi PHA

Zadání diplomové práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí cíle:

- rešerše zaměřená na metody zvlákňování a na možnosti přípravy nanovláken na bázi polyhydroxyalkanoátů
- zavedení a optimalizace metod přípravy nanovláken a nanočástic z polymeru PHA
- charakterizace nanovláken a nanočástic
- testování vlastností a možností aplikace nanovláken a nanočástic na bázi PHA

Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Vojtěch Linha
student(ka)

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Cílem této práce bylo popsat možnosti přípravy a výroby nanovláken a jejich možné využitelnosti v praxi. V teoretické části jsou shrnuty principy hlavních metod výroby nanovláken a popsány materiály použité v experimentální části.

Experimentální část byla zaměřena na vytvoření pracovních postupů přípravy definovaných nanovláknenných vrstev v laboratorních podmínkách, jejich možné modifikace a funkcionalizace pomocí aditiv. U aditiv byla zkoumána dynamika uvolňování z různě vytvořených nanovláknenných vrstev do různých prostředí.

ABSTRACT

The goal of this thesis was to summarize basic options of fiber spinning and manufacturing and their usability in industry. Methods of nanofiber spinning are described in the teoretical part, alongside the materials used in experimental part.

The experimental part was focused on creating of workflow of defined nanofibers in laboratory enviroment, the possible modification of nanofibers with aditives. The release of aditives from different nanofibers into different enviroments was measured.

KLÍČOVÁ SLOVA

nanovláknna, polyhydroxy butyrát, aditiva, výroba

KEY WORDS

nanofiber, polyhydroxybutyrate, aditives, manufacturing

LINHA, V. Příprava a aplikace nanovláken a nanočástic na bázi PHA. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 53 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Ivana Márová, CSc..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje byly správně a úplně citovány. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

Poděkování:

Tímto bych chtěl poděkovat paní prof. RNDr. Ivaně Márové, CSc. za trpělivost a vedení, při tvorbě této diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat své rodině a svým kamarádům za obrovskou psychickou podporu. Oni vědí, kteří to jsou.

Obsah

1. Úvod.....	8
2. Teoretická část	9
2.1 Výroba nanovláken pomocí elektrospinnu	9
2.1.1 Parametry ovlivňující zvlákňování	10
2.1.2 Koaxiální nanovláknna	12
2.2 Výroba nanovláken pomocí rotačního zvlákňování	13
2.3 Polyhydroxy butyrát	15
2.4 Aditiva	16
2.4.1 Azobenzen.....	16
2.4.2 Amidová čerň.....	16
2.4.3 Riboflavin	17
2.4.4 Betakaroten	17
3. Experimentální část.....	18
3.1 Materiály a přístroje.....	18
3.1.1 Použité chemikálie	18
3.1.2 Použité přístroje.....	18
3.2 Pracovní postupy optimalizace výroby nanovláken na elektrospinnu změnou parametrů zvlákňování	19
3.2.1 Příprava pracovních roztoků	19
3.2.2 Zvlákňování roztoků	19
3.2.3 Pozorování nanovláknenných vrstev.....	20
3.3 Pracovní postupy optimalizace výroby nanovláken na elektrospinnu změnou parametrů roztoku	20
3.3.1 Příprava pracovních roztoků	20
3.3.2 Zvlákňování roztoků	20
3.3.3 Pozorování nanovláknenných vrstev.....	20
3.4 Pracovní postupy zkoumání změny morfologie a hydrofilty nanovláken přidavkem aditiva.....	20
3.4.1 Příprava pracovních roztoků	20
3.4.2 Zvlákňování roztoků a příprava nanovláknenných vrstev	21
3.4.3 Pozorování nanovláknenných vrstev.....	21
3.5 Pracovní postupy vyhotovení kalibračních řad pro zkoumání uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev	22

3.5.1	Příprava pracovních roztoků kalibrační řady	22
3.6	Pracovní postupy zkoumání přídavku a uvolňování aditiv z nanovlákněné vrstvy vytvořené elektrospinem	22
3.6.1	Příprava pracovních roztoků	22
3.6.2	Zvlákňování roztoků	23
3.6.3	Příprava vzorků na měření uvolňování aditiv	23
3.6.4	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev	23
3.7	Pracovní postupy zkoumání přídavku a uvolňování aditiv z nanovlákněné vrstvy vytvořené rotačním zvlákňováním	23
3.7.1	Příprava pracovních roztoků	23
3.7.2	Zvlákňování roztoků	24
3.7.3	Příprava vzorků na měření uvolňování aditiv	24
3.7.4	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev	24
3.8	Zpracování a vyhodnocení dat.....	24
4.	Výsledky a diskuze	26
4.1	Optimalizace výroby nanovláken na elektrospinu změnou parametrů zvlákňování .	26
4.2	Optimalizace výroby nanovláken na elektrospinu změnou parametrů roztoku.....	27
4.3	Zkoumání změny morfologie a hydrofilty nanovláken přídavkem aditiva	29
4.4	Vyhotovení kalibračních řad pro zkoumání uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev	29
4.5	Zkoumání přídavku a uvolňování aditiv z nanovlákněné vrstvy vytvořené elektrospinem	31
4.5.1	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev ve vodě.....	31
4.5.2	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev v lihu	32
4.5.3	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev v DMSO.....	34
4.6	Zkoumání přídavku a uvolňování aditiv z nanovlákněné vrstvy vytvořené rotačním zvlákňováním	36
4.6.1	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev ve vodě.....	36
4.6.2	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev v lihu	37
4.6.3	Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev v DMSO.....	39
4.7	Porovnání uvolňování aditiv z nanovlákněné vrstvy vytvořené elektrospinem a rotačním zvlákňováním	41
5.	Závěr	42
6.	Seznam zkratk	43
7.	Reference.....	44
8.	Reference obrázků.....	46

9. Seznam příloh.....	47
10. Přílohy	48

1. Úvod

V posledním desetiletí se v medicínských aplikacích rozšířil fenomén zvaný nanovlákná. Objev materiálu, jehož vlákna se pohybují v rozměrech menších, než mikroskopických vedl celou řadu vědců k myšlenkám a nápadům použití tohoto zvláštního materiálu. Nejvíce se v souvislosti s nanovlákný mluví o medicínských aplikacích a to konkrétněji o materiálech na krytí ran, materiálech pro chirurgické zákroky, jako jsou samovstřebávací nitě a protirůstové obvazy, a materiály pro scaffoldy jako náhrada tkáně. V souvislosti s těmito aplikacemi se o nanovláknách mluví hlavně kvůli jejich vlastnostem. Největší výhodou nanovláken je jejich obrovský měrný povrch, proto mají nanovlákná velkou reaktivitu s okolím. V závislosti na materiálu, ze kterého jsou vyrobena, dobře přijímají vodu, mohou na svém povrchu nést jiné látky, při procesu vláknění se dá upravit jejich pórovitost a tím mohou fungovat i jako polopropustné membrány a velmi dobré kryty otevřených ran. Navíc svou strukturou napodobují extracelulární matrix a mohou nahrazovat pletivo, na kterém mohou růst nové buňky.[1]

Všechny tyto vlastnosti nanovláknenné materiály vyvyšují nad ostatní makrovláknenné materiály, ale mají ještě jednu výhodu, díky které se staly zajímavým terčem vědeckého bádání. Do nanovláken lze buď v průběhu zvláknňovacího procesu nebo až na hotovou vrstvu nanovláken inkorporovat přídatné látky, povětšinou léčiva, která zlepšují vlastnosti nanovláknenné vrstvy, a to že buď fyzikální a mechanické vlastnosti textilie, nebo léčivý účinek nanovláken.[2]

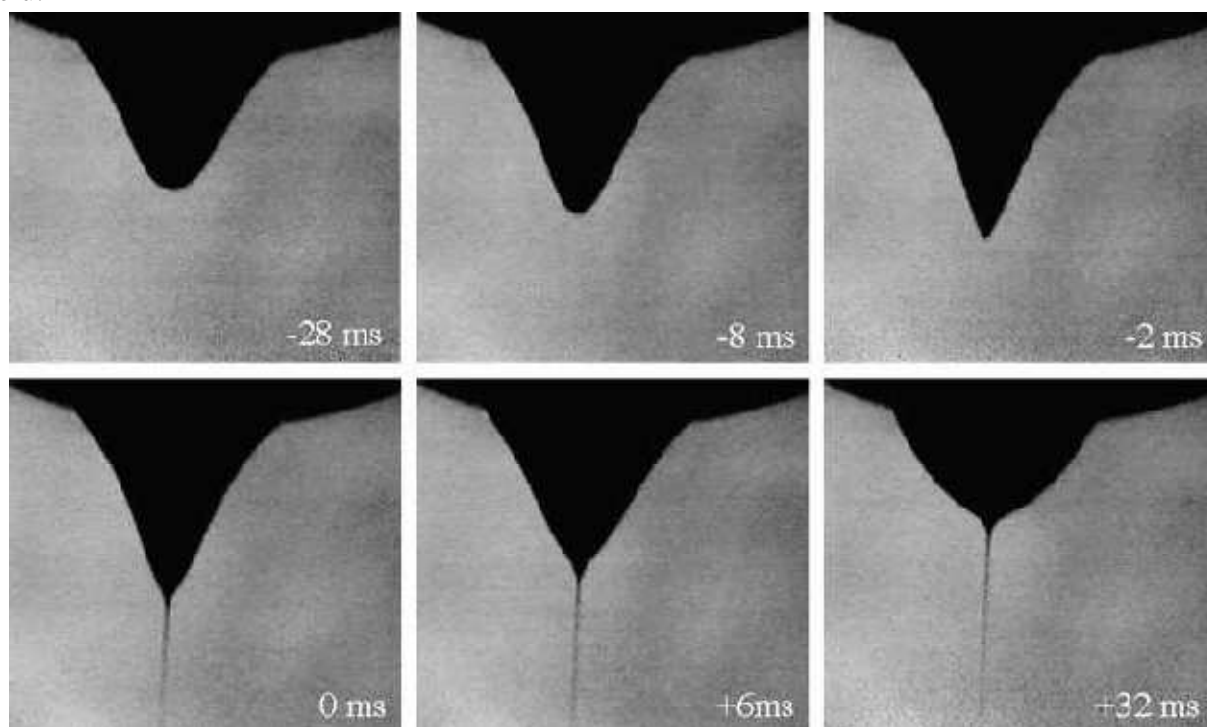
2. Teoretická část

V teoretické části jsou popsány hlavní metody výroby a přípravy nanovláknenných vrstev, parametry ovlivňující tento proces a materiály použité v této práci. Konkrétně popis polyhydroxy butyrátu a aditiv použitých v experimentální části.

2.1 Výroba nanovláken pomocí elektropsinnu

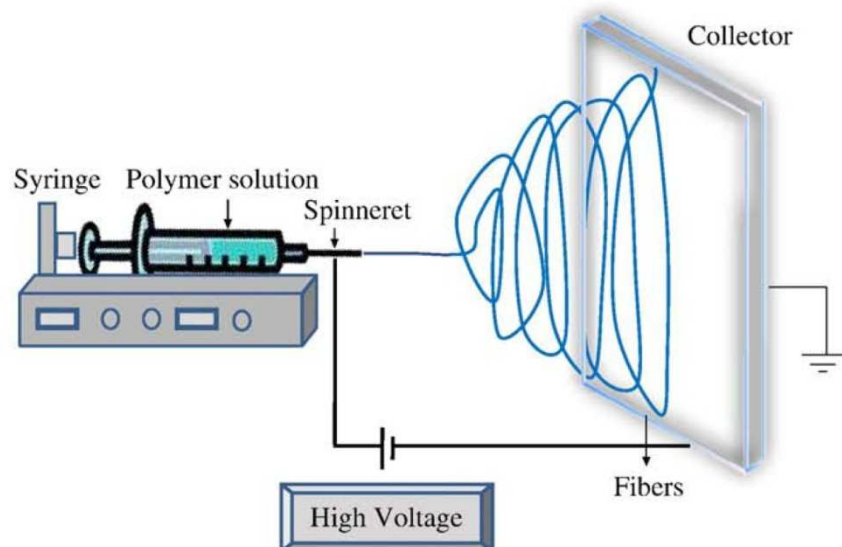
Elektrostatické zvlákňování je základní a v této chvíli hlavní technikou přípravy a výroby nanovláknenných struktur, jak v laboratorním prostředí, tak v průmyslovém měřítku. Jde o nejpropracovanější metodu, co se týče optimalizace postupů. Základní princip elektrostatického zvlákňování je velmi jednoduchý.

Přístroj pro výrobu nanovláken se nazývá elektropsinner a jeho základní provedení sestává z kovové jehly, která slouží jako zvlákňovací elektroda, a kovové desky, která zastává funkci sběrné elektrody neboli kolektoru. Průběh zvlákňování pak probíhá následovně: do lineárního dávkovače je umístěna stříkačka se zvlákňovacím roztokem. Ten je nevodivou trubicí pomalu vytlačován do zvlákňovací elektrody. Ve chvíli, kdy se na konci jehly začne tvořit kapka roztoku je zapnuto elektrostatické napětí, které začne působit na roztok. Kapka roztoku se působením pole začne deformovat do takzvaného Taylorova kuželu.



Obrázek 1: Vznik Taylorova kuželu a vlákna

Kužel se deformuje až je vytažen do vlákna, které prolétá prostorem mezi elektrodami a postupně zasychá. Na kovovou desku poté dopadá již zformované vlákno a začíná tvořit nanovláknennou textilií. [3]



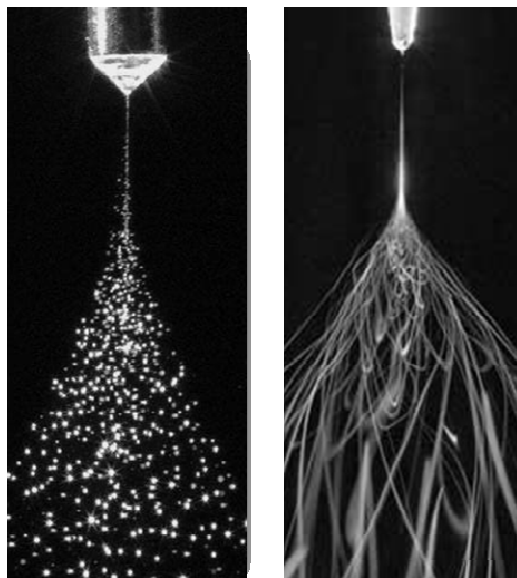
Obrázek 2: Elektropinnová výroba nanovláken

2.1.1 Parametry ovlivňující zvlákňování

U tohoto procesu hrají hlavní roly dvě velké skupiny proměnných: parametry roztoku, parametry zvlákňování a prostředí.

Mezi parametry roztoku patří viskozita, elektrická vodivost, povrchové napětí a v neposlední řadě těkavost.

Viskozita nám bude ovlivňovat tvorbu Taylorova kužele, potažmo tvorbu samotného vlákna. Pokud je viskozita a koncentrace polymeru v roztoku moc vysoká dochází většinou k defektu známému jako electrospraying. Tento jev je nevyžádaný, protože nevede k tvorbě vláken, ale kapének, které navíc mohou porušit již vytvořenou nanovlákennou vrstvu. [4]



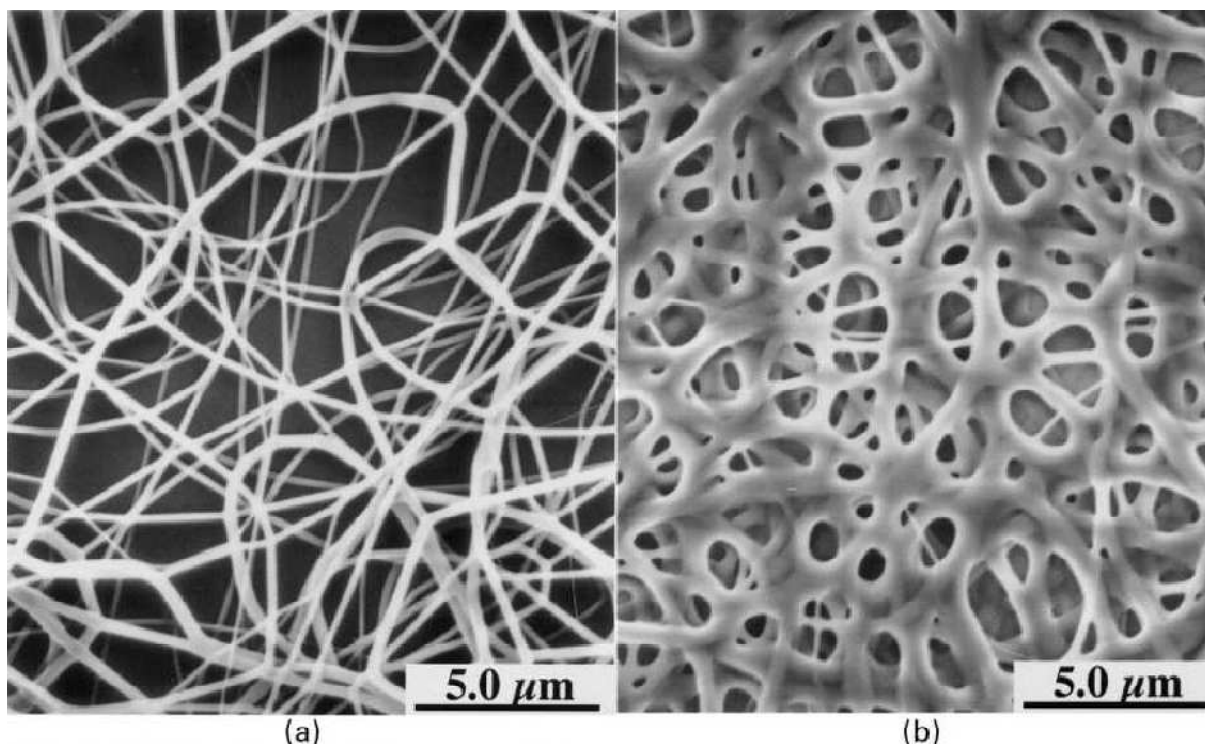
Obrázek 3: Electrospraying vs electrospinning

Elektrická vodivost roztoku nám určuje tendenci vytrhávání zvlákňovacích proudů z kapky roztoku. Pokud je vodivost příliš nízká, v kapce se není schopen vytvořit dostatečný náboj a vlákno nevznikne. Naopak, když je vodivost příliš vysoká, vlákna se vytrhávají příliš rychle a proud roztoku nestihne před dopadem na kolektorovou desku zaschnout. Tím dochází k znehodnocení vytvořených vláken a nežádoucím defektům.

S tím je spojen další parametr roztoku a tím je těkavost rozpouštědla. Čím těkavější rozpouštědlo bude použito, tím kvalitnější nanovláknenné vrstvy se nám budou tvořit. Problémem ovšem zůstává, že ne vždy je možné takové rozpouštědlo použít a navíc může docházet k zasychání roztoku již na zvlákňovací elektrodě, a tím i k narušení celého zvlákňovacího procesu. Odpařování rozpouštědla je naštěstí možné regulovat teplotou a vlhkostí v prostředí zvlákňovací komory.

Za parametry zvlákňování můžeme označit veličiny jako je: napětí elektrostatického pole mezi elektrodami, vzdálenost elektrod, dávkování zvlákňovacího roztoku, vlhkost a teplota prostředí.

Napětí elektrostatického pole je hlavní hnací silou celého procesu a je úzce spjata se vzdáleností elektrod. Při zvětšující se vzdálenosti elektrod, klesá intenzita elektrického pole a tím i síla schopná vytrhávat vlákna z roztoku. Naopak nelze tuto vzdálenost zmenšovat neomezeně, protože právě toto je hlavním faktorem zasychání proudu roztoku a formování nanovláken. V případě přílišného zmenšení vzdálenosti mezi elektrodami, může docházet k perlovým defektům a nedostatečnému vytvarování nanovláken. Takovéto struktury pak mají průměry vláken větší než vrstvy vytvořené za stejných podmínek, pouze s větší vzdáleností elektrod. [5]



Obrázek 4: Vlákná tvořena při vzdálenosti 2 cm a 0,5 cm

Parametry zvlákňování při správném výrobním procesu jsou úzce spjaty s parametry roztoku. Nikdy nelze pevně říci, že určité pracovní podmínky jsou správné pro daný polymer či rozpouštědlo. Proces zvlákňování je delikátní souhrou všech těchto podmínek a je potřeba je vždy správně definovat, pro tvorbu vláken s požadovanými parametry.

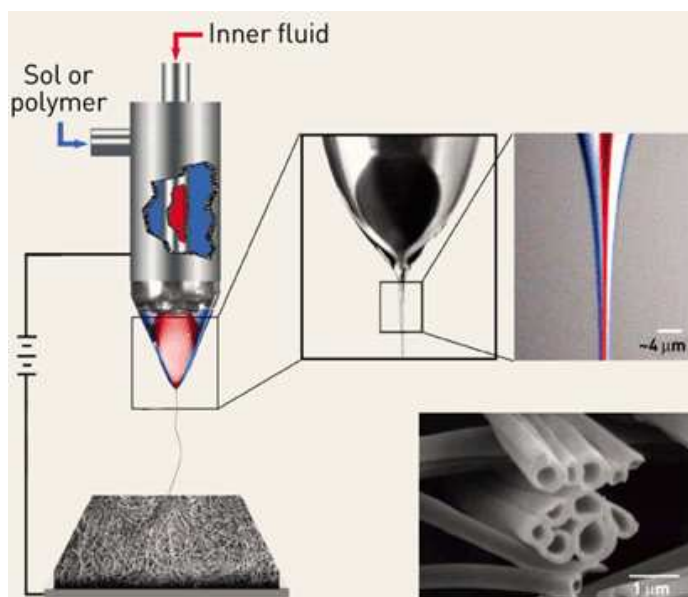
2.1.2 Koaxiální nanovlákná

Koaxiální nanovlákná jsou dvojitá nanovlákná typu jádro-plášť tvořená dvěma různými typy látek. Výroba probíhá tak, že do speciální dvojité jehly jsou hnány dva polymery a elektrostatické pole vytahuje oba polymery najednou a tím se tvoří nanovlákná typu jádro-plášť, tzv. core-shell. [6]

V porovnání s metodou zvlákňování jednoduchou jehlou je účinnost včleňování léčiv do vláken stále vysoká. Tato metoda se nejčastěji používá pro distribuci proteinů, kdy proteiny jsou rozpuštěny v jádře nanovlákná. [7] Zároveň tak lze připravit vrstvu nanovláken, která by nesla dvě léčiva, jedno v plášti a druhé v jádru. Tato nanovlákná by pak mohla sloužit jako nosič léčiv s dvěma různými dynamickými vlastnostmi uvolňování. Příkladem je vrstva koaxiálních nanovláken s obsahem základního fibroblastického růstového faktoru (bFGF) a epidermálního růstového faktoru (EGF). bFGF byl rozpuštěn ve vodní fázi plášťového polymeru a EGF byl rozpuštěn v polymeru jádra koaxiálního nanovlákná. Tímto krokem byla zmenšena počáteční difúze léčiv z nanovláken a uvolňování růstových faktorů bylo pozorováno i po 7 dnech. [8]

V průmyslovém prostředí je největším limitujícím faktorem rychlosti výroby koaxiálních nanovláken fakt, že je lze připravovat pouze z jehlového emitru, na kterém vzniká pouze

jeden Taylorův kužel. To vede k dlouhé přípravě nanovláknenných struktur a malé hmotnosti takto vytvořených experimentálních vrstev.



Obrázek 5: Koaxiální zvlákňování

To by se ale mohlo změnit, neboť na fakultě v Liberci, byl vyvinut způsob koaxiálního hladinového zvlákňování. Jeho nesrovnatelnou výhodou je množství polymeru, který je schopen zvláknit v daném časovém úseku. Ke zvlákňování totiž dochází z více kuželů naráz a nanovláknenná struktura se tak tvoří rychleji. Průtok polymeru mohl být až ztrojnásoben a dokonce se o třetinu snížil průměr vláken. Koaxialita vláken byla dokázána fluorescenční konfokální mikroskopií.

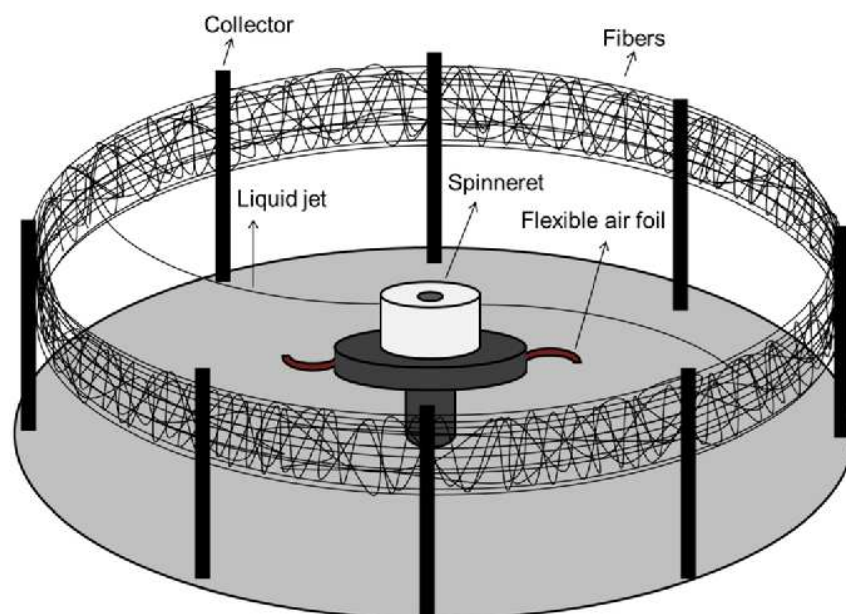
Tento způsob výroby tedy do budoucnosti slibuje velké výsledky na poli výroby koaxiálních nanovláknenných struktur, jako nosičů léčiv.[9]

2.2 Výroba nanovláken pomocí rotačního zvlákňování

Dalším z hlavních způsobů přípravy a výroby nanovláken je rotační zvlákňování. Tato technika lze použít jako alternativní cesta výroby nanovláknenných struktur, pro případy, kdy není možné zvlákňovací roztok prohnat skrz elektrostatické pole elektrospinnu. U této metody totiž není jako hlavní síla vytrhávající vlákna z roztoku použito elektromagnetické pole, ale odstředivá síla rotujícího zvlákňovacího kotouče.

Druhou zásadní výhodou rotačního zvlákňování oproti elektrospinnu je množství vytvořených vláken za časový úsek. U elektrostatického zvlákňování s jednou jehlou se průtok roztoku pohybuje okolo 6 ml/h. U vícenásobných jehel se dostáváme přibližně na 30 ml/h a u hladinového zvlákňování můžeme dosáhnout až 45 ml/h. Rotační zvlákňování potřebuje nepřetržité dávkování roztoku a to v objemu i 50 ml/min. Tvorba nanovláknenných struktur tedy probíhá daleko rychleji, což je hlavním zájmem tvorby nanovláken pro průmyslové měřítko.

Celá sestava zvlákňovače sestává z rotujícího disku umístěného ve středu přístroje, mezery pro zasychání vytrhávaných nanovláken a válcové sběrné desky umístěné po obvodu celého přístroje. Tato deska pak funguje jako kolektor pro nanovláknenné struktury.[10]



Obrázek 6: Rotační výroba nanovláken

V zásadě platí, že podmínky zvlákňování jsou podobné jako u elektrostatického zvlákňování. Na kvalitu vláken mají hlavní vliv za prvé parametry roztoku, za druhé parametry přístroje a za třetí parametry prostředí.

U parametrů roztoku počítáme s limitacemi viskozity, koncentrací polymeru a těkavostí rozpouštědla. Na druhou stranu můžeme zanedbat vodivost roztoku, protože jak bylo řečeno, hlavní hnací silou zvlákňovacího procesu není elektrické pole, ale odstředivá síla, působící na rotující masu roztoku ve středu zvlákňovače. Proto nás zajímají pouze první tři zmíněné parametry. [11]

V zásadě je potřeba vytvořit roztok, který se bude lehce zvlákňovat, potažmo snadno se z něj budou vytrhávat proudy nanovláken. Je potřeba, aby byl vytvářen souvislý proud nanovláken, která stihnou před dopadem na kolektorovou desku zaschnout. V opačném případě může docházet k takzvanému perlovému defektu nebo hůře, k dopadání roztoku na kolektorovou plochu a opětovnému rozpouštění vytvořených vláken.

Parametry přístroje jsou úzce svázány s parametry roztoku, protože v zásadě platí, čím větší viskozita, tím větší musí být otáčky zvlákňovacího disku, a čím menší těkavost, tím větší musí být prostor mezi diskem a sběrnou stěnou. V ideálním případě dochází k vytváření nanovláknenných vrstev, v opačném k defektům popsaným výše.

Parametry popsané výše se ještě dají regulovat podmínkami prostředí. Pokud zvýšíme teplotu a snížíme tlak v prostředí zvlákňovače, můžeme rapidně zmenšit prostor na tvorbu nanovláken, protože vlákna se stihnou zformovat daleko dříve. Parametry prostředí se bohužel v laboratorním měřítku špatně kontrolují. Naštěstí obdobného výsledku jsme schopni dosáhnout, i pokud použijeme těkavější rozpouštědlo. [12]

2.3 Polyhydroxy butyrát

Polyhydroxy butyrát je přírodní biopolymer řadící se do skupiny esterů. Podle nejnovějšího trendu se jedná o látku, která by mohla nahradit dosavadní plasty jako biodegradovatelná varianta. Jedná se totiž o plast biokompatibilní, rozložitelný, netoxický a termoplastický. Na rozdíl od klasických plastů vyráběných z fosilních zdrojů, se jedná o plast s teoreticky neomezeným zdrojem, protože je tvořen jako zásobní polymer buněčnými kulturami, nikoli z ropy, která na naší planetě pomalu dochází. V poslední době se na trhu s PHB roztrhl pytel s výrobcí a cena klesla k 5 libráům za kilogram látky. [13]

Nejen, že by PHB mohlo jednou nahradit dosavadní plasty, tak už i nyní se pracuje s jeho využitím v medicíně. Díky svým silným mechanickým vlastnostem a nerozpustnosti ve vodě se využívá v mixech s jinými polymery při přípravě nanočástic a nanovláknenných struktur.

Příkladem takového výzkumu je článek doktora Maseliho a kolektivu, ve kterém zkoumá vliv obsahu polyhydroxyvalerátu (PHBV) na strukturu a vlastnosti nanovláknenných vrstev a možnosti proliferace buněk na těchto vrstvách. Zde se uvádí, že poloměr vláken klesal s rostoucím obsahem PHBV ve vzorcích. Dále, že Ramanova spektroskopie ukázala, že všechny vzorky jsou homogenní. Krystalinita a teplota tání se snižovaly s rostoucím obsahem PHBV. Tyto vlákna navíc vykazovala lepší mechanické vlastnosti než vlákna ze samotného PHB. Také byla vlákna sbírána na rotačním kolektoru, kde vykazovala velmi dobrou úroveň uspořádání od 4000 otáček za minutu. Na takových vrstvách probíhala proliferace buněk rychleji a buňky se samovolně orientovaly podle směru vláken. Po 14 dnech buňky na orientovaných vláknech vykazovaly větší míru proliferace, než buňky na vláknech neuspořádaných. Závěrem byla k proliferaci buněk testována vlákna s obsahem kolagenu, která se ukázala jako nejlepší. [14]

Dalším příkladem, že nanovláknenné struktury jsou lepším systémem pro růst buněk je článek od doktora Xian-Yi Xu a kolektivu, který zkoumal proliferaci buněk na nanovlákněch a 2D filmu z PHB. Výsledky hovořily jasně pro nanovlákna. Na rozdíl od 2D filmů mají nanovlákna podobnou strukturu jako ECM a podporují adhezi a růst buněk. Tento fakt umocněný jejich biodegradovatelností a silnými mechanickými vlastnostmi je staví jako jeden z hlavních materiálů při léčbě míchy. [15]

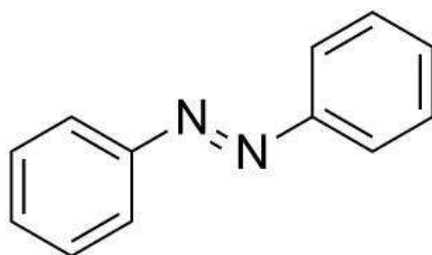
2.4 Aditiva

Hlavním cílem tvorby nosičů léčiv je enkapsulace či integrace aditiv do nanovláknenných struktur. K tomuto účelu je třeba vědět, v jakém množství byla aditiva do struktury integrována a jak se budou uvolňovat. Proto jako modelové látky byla zvolena barviva, která jsou snadnou dostupná, málo toxická a mají snadnou možnost kvalitativní i kvantitativní analýzy.

Z toho důvodu byla zvolena barviva: amidová čern jako zástupce anionických barviv, betakaroten jako zástupce lipofilních barviv, azobenzen jako molekula neutrální a riboflavin jako komplexní sloučenina s hydroxylovými skupinami.

2.4.1 Azobenzen

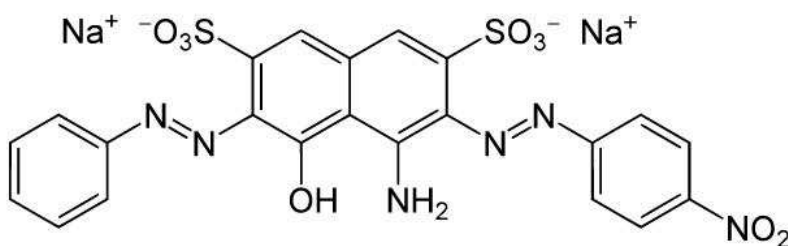
Azobenzen je chemická sloučenina tvořená dvěma fenylovými kruhy spojenými N=N dvojnou vazbou. Je to nejjednodušší z arylazo sloučenin. Jednou z nejzajímavějších vlastností azobenzenu je jeho schopnost měnit svoji konformaci při specifických vlnových délkách dopadajícího světla. Azobenzen je také přidáván do polymerových maticí, kde slouží jako stabilizátor. Kvůli značné geometrické změně při přechodu z cis do trans konformace a naopak, se azobenzen využívá ke kontrole aktivity proteinů pomocí světla. V závislosti na konformaci, je potom protein aktivní, či nikoli, a je možno jeho aktivitu změnit pomocí daného ultrafialového záření. [16]



Obrázek 7: Azobenzen

2.4.2 Amidová čern

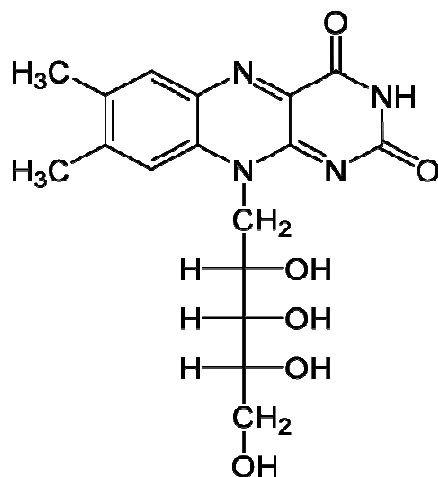
Amidová čern 10B je diazoaminokyselinové barvivo používané v biochemických výzkumech pro barvení proteinů při membránových blotech, jako je například western blot. Společně s kyselinou pikrovou se používá na barvení kolagenu a retikulinu ve van Giesonově proceduře. Používá se jak ve vodních tak lihových, zejména metanolových, roztocích, neboť se dobře rozpouští v obou prostředích. V praxi se používá v kriminalistice při vyšetřování k detekci krve a otisků prstů, protože barví proteiny v krvi do modro-černého zbarvení. [17]



Obrázek 8: Amidová čern

2.4.3 Riboflavin

Vitamín B2 neboli také riboflavin, je málo rozpustné žluté přírodní barvivo. V průmyslu je označováno pojmem E101. Základní struktura riboflavin je tvořena heterocyklickým isoalloxazinovým jádrem a cukerným alkoholribitolem. Při působení světla se rozkládá a díky svojí struktuře fluoreskuje. Je součástí koenzymů flavinadeninmononukleotidu (FAD) a flavinmononukleotidu (FMN) a hraje důležitou roli v oxidačním metabolismu. Nedostatek riboflavinu v těle se projevuje záněty úst, rtů, jazyka a spojivek. Předávkování touto látkou není možné, protože patří mezi vitamíny rozpustné ve vodě a nadbytek vitamínu se z těla odplavuje močovými cestami. [18]

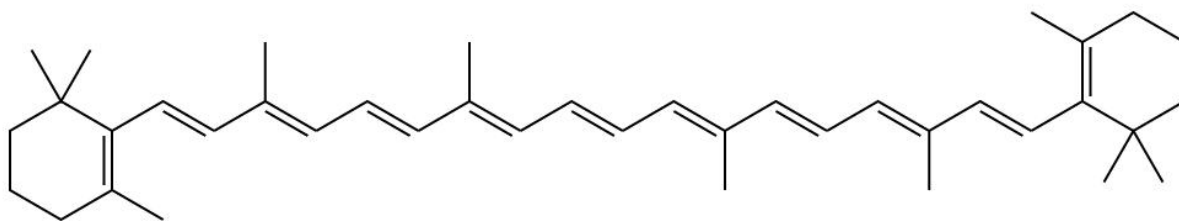


Obrázek 9: Riboflavin

2.4.4 Betakaroten

Betakaroten je nepolární sloučenina sloužící jako fotosyntetické barvivo. Protože jde o lipofilní látku, nachází se v buněčné membráně a slouží jako krycí štít v případě silného slunečního záření. Také je prekurzorem vitamínu A. Nejnovější zprávy říkají, že pokud člověk obden pozře 50 mg betakarotenu, sníží si riziko úpadku kognitivních funkcí. Tato studie probíhala na 4000 pacientech po dobu 18 let. Dále je betakaroten předepisován lidem trpícím erythropoetickou profýrií, protože vitamín A snižuje citlivost na světlo.

V nanosvětě je betakaroten využíván společně s lycopenem při enkapsulaci do karbonových nanotrubelek. Tento postup zaprvé stabilizuje nanovláknenné struktury a zadruhé dochází k efektivnímu transportu energie, kdy betakaroten je schopen absorbovat světelné záření a bez znatelné ztráty tuto energii předat stěnám karbonových nanotrubelek. [19]



Obrázek 10: Betakaroten

3. Experimentální část

Náplní experimentální části této práce bylo optimalizovat přípravu a výrobu nanovlákných vrstev tvořených bioodbouratelným polymerem PHB (polyhydroxy butyrátu) a prozkoumat možnosti aplikací těchto netkaných textilií. K tomu účelu bylo nejdříve nutné definovat ideální podmínky pro tvorbu těchto vrstev, jak z hlediska parametrů zvláknovacího přístroje, tak z hlediska variací zvláknovacích roztoků a jejich vlivu na kvalitu, velikost a množství vytvořených vláken.

V další části byly zkoumány možnosti modifikace a aplikace nanovlákných vrstev. K tomuto účelu byl proveden experiment modifikace hydrofility nanovlákné vrstvy přidavkem pentaerithriolu triakrylátu.

V poslední části byly zkoumány parametry uvolňování přidaných látek do různých prostředí v závislosti na čase. Pro tento účel byla použita 4 různá barviva s různými chemickými vlastnostmi, 3 různá prostředí a 2 metody tvorby nanovlákných vrstev, pro možnost porovnání.

3.1 Materiály a přístroje

3.1.1 Použité chemikálie

Poly-3-hydroxy butyrát, FCH VUT
Chloroform, Sigma-Aldrich
Dichlorethan, Sigma-Aldrich
Trichlorethylen, Sigma-Aldrich
Dimethyl sulfoxid (DMSO), Sigma-Aldrich
Ethanol, Sigma-Aldrich
Triethylamino bromid (TEAB), Sigma-Aldrich
Riboflavin (Rib), Sigma-Aldrich
Azobenzen (AB), Sigma-Aldrich
Karoten (Kar), Sigma-Aldrich
Amidová čerň (AC), Sigma-Aldrich

3.1.2 Použité přístroje

Electrospinner Fakulty chemické VUT v Brně
Rotační zvlákňovač
Elektronový mikroskop
UV-VIS spektrofotometr
Optický mikroskop s fotoaparátem
Přístroj na měření kontaktního úhlu
Magnetická míchačka
Vortex

3.2 Pracovní postupy optimalizace výroby nanovláken na elektrospinu změnou parametrů zvlákňování

3.2.1 Příprava pracovních roztoků

Zásobní roztok byl připraven tak, aby obsahoval 2 hm. % PHB, rozpuštěných v chloroformu. 1,8 g PHB byly umístěny do zahřívací baňky s plochým dnem a magnetickým míchadlem a bylo přidáno 78,2 g chloroformu. Vršek baňky byl zakryt alobalem, kvůli těkajícímu chloroformu, a celá baňka byla zahřívána na elektrické míchačce v digestoři po dobu minimálně 2 hodin do rozpuštění PHB. V případě potřeby byl chloroform doplněn. Před opakovaným použitím byl roztok zahříván, vážen a v případě potřeby doplněn na původní hmotnost.

3.2.2 Zvlákňování roztoků

Zvlákňování roztoků bylo prováděno na elektrospinnové soustavě, sestavené Vysokým učeníem technickým v Brně. Nejdříve byla kovová deska sloužící jako kolektor pokryta alobalem. Do injekční stříkačky poté bylo nabráno 20 ml roztoku a byla uchycena do dávkovače. Poté byla upravena vzdálenost konce jehly, sloužící jako zvlákňovací elektroda a kolektor. K oběma elektrodám byly připevněny svorky s elektrickým napětím a kolektor byl uzemněn do zemnicího kolíku rozvodné sítě. Byla překontrolována zvlákňovací soustava, spuštěno dávkování a zapnut zdroj vysokého napětí. Celý proces byl neustále pozorován, kvůli možným chybám zvlákňovací soustavy.

Zvlákňování vrstev probíhalo ve třech sériích po třech vzorcích. V každé sérii byl měněn jiný parametr zvlákňovacího procesu. V tabulce níže jsou uvedeny přesné parametry jednotlivých vrstev.

Tabulka 1: Parametry optimalizace zvlákňovacího procesu

Název vrstvy	Vzdálenost [cm]	Napětí [kV]	Průtok [ml/h]
L1	15	15	5
L2	25	19	6
L3	7,5	15	5
L4	21,5	12	7
L5	21,5	19,4	9
L6	21,5	7	4
L9	15	15	6
L10	15	15	12
L11	15	15	18

V první sérii byla měněna vzdálenost elektrod. V druhé byl pozorován vliv napětí na zvlákňování a ve třetí bylo alternováno s průtokem zvlákňovacího roztoku.

Po vyčerpání zvlákňovacího roztoku bylo vypnuto napětí, odstraněn možný zbývající elektrický náboj v soustavě a opatrně sejmuta nanovláknenná vrstva a uschována k dalšímu pozorování.

3.2.3 Pozorování nanovlákných vrstev

Nanovlákněné vrstvy byly popsány a zhodnoceny. Z technických důvodů byl vybrán pouze jeden vzorek pro pozorování na elektronovém mikroskopu. Tento vzorek byl nafocen a byla přeměřena velikost vláken v zobrazovacím softwaru.

3.3 Pracovní postupy optimalizace výroby nanovláken na elektrospinu změnou parametrů roztoku

3.3.1 Příprava pracovních roztoků

Byly připraveny řady pracovních roztoků s obsahem PHB 1; 3 a 5 hm. % v různých rozpouštědlech. Tyto řady byly připraveny dvakrát, jednou bez a poté s přídavkem 0,2 hm. % triethylamino bromidu (TEABu). To bylo provedeno k změně iontové síly a větší vodivosti roztoku. Jako rozpouštědla byla použita: chloroform, dichlorethan, trichlorethylen a DMSO.

Hotové roztoky měly obsah 2 g PHB. Do zahřívací baňky s plochým dnem byl navážen 2 g PHB, bylo doplněno příslušné množství rozpouštědla a roztoky byly zahřívány 3-5 hodin na topném tělese s magnetickou míchačkou do úplného rozpuštění polymeru. Podle potřeby bylo doplněno rozpouštědlo. Roztoky poté byly rozděleny napůl a bylo přidáno 0,2 hm. % TEABu do jednoho z roztoků. Poté byl roztok ještě hodinu míchán magnetickou míchačkou.

3.3.2 Zvlákňování roztoků

Roztoky byly zvlákňovány za totožných podmínek a to v 15cm vzdálenosti elektrod zvlákňovacího přístroje, při napětí 15 kV a při stabilním průtoku roztoku 15 ± 2 ml/h. Tyto hodnoty byly vybrány po vyhodnocení první části experimentu. Zvlákňování probíhalo, dokud nebylo vypotřebováno alespoň 80 % pracovního roztoku, kvůli dostatečné síle nanovlákněné vrstvy. Příprava a ukončování zvlákňovacího procesu probíhalo stejně jako v kapitole 3.2.2. Nanovlákněné vrstvy byly poté sundány z kolektoru a uschovány pro další pozorování.

3.3.3 Pozorování nanovlákných vrstev

Nanovlákněné vrstvy byly zhodnoceny a popsány. První pozorování proběhlo na optickém mikroskopu. Zde byly vrstvy nafoceny a byli vybráni nejlepší kandidáti. Z technických důvodů bylo vybráno pouze 7 nanovlákných vrstev z celkového počtu a ty byly pozorovány na elektronovém mikroskopu. Zde byly vrstvy nafoceny a zobrazovacím softwarem byly přeměřeny velikosti vláken vytvořených netkaných textilií.

3.4 Pracovní postupy zkoumání změny morfologie a hydrofilty nanovláken přídavkem aditiva

3.4.1 Příprava pracovních roztoků

Byl vytvořen zásobní roztok 2 hm. % PHB v dichlorethanu s 0,2 hm. % přídavkem TEABu. V zahřívací baňce s plochým dnem bylo rozpuštěno 10 g PHB v 490 g dichlorethanu. Roztok byl překryt alobalem a na magnetické míchače zahříván po dobu minimálně 3 hodin

do rozpuštění polymeru. V případě potřeby bylo doplněno rozpouštědlo na původní hodnotu. Poté bylo přidáno 0,5 g TEABu a roztok byl znovu hodinu promícháván.

Ze zásobního roztoku bylo odebráno 8 částí po 60 g do 8 zahřívacích baněk s plochým dnem. Do těchto roztoků byla přidána řada aditiva v koncentraci 0; 0,1; 1; 3; 6; 9; 12 a 15 hm. % pentaerithriolu triakrylátu. Po přidavku byly roztoky znovu hodinu promíchávány. V případě potřeby bylo doplněno rozpouštědlo.

3.4.2 Zvlákňování roztoků a příprava nanovláknenných vrstev

Roztoky byly zvlákňovány na elektrospinu Vysokého učení technického v Brně. Postup přípravy a ukončení zvlákňování bylo stejné jako v kapitole 3.2.2. Roztoky byly zvlákňovány při vzdálenosti elektrod 15 cm, při napětí 15kV a při stabilním průtoku roztoku 15 ± 2 ml/h. Zvlákňování probíhalo, dokud nebyl vypotřebován všechen roztok daného vzorku.

Nanovláknenné vrstvy byly sejmuty a rozstříženy napůl. Jedna část byla uschována a druhá byla ozařována UV zářivkou po dobu 2 minut. Poté byla uschována i druhá část nanovláknenné vrstvy pro další pozorování.

3.4.3 Pozorování nanovláknenných vrstev

Pozorování vrstev mělo být prováděno na přístroji pro měření kontaktního úhlu. Na desku přístroje byla položena nanovláknenná vrstva a byla z pipety přikápnuta kapka vody. Poté byl změřen její kontaktní úhel. Data měla být vyhodnocována pomocí softwaru DaS OCA20.

3.5 Pracovní postupy vyhotovení kalibračních řad pro zkoumání uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev

3.5.1 Příprava pracovních roztoků kalibrační řady

Byly vytvořeny zásobní roztoky kalibračních řad pro 4 různá barviva ve 3 různých rozpouštědlech a to azobenzen, riboflavin, karoten a amidová čern ve vodě, etanolu a DMSO. Byl připraven zásobní roztok aditiva pro kalibrační řadu, rozpuštěním vždy 4 mg aditiva v 50 g daného rozpouštědla a následným rozředěním zásobního roztoku do 9 10ml odměřovacích baněk podle tabulky níže. Roztoky byly promíchány na vortexu.

Tabulka 2: Ředění zásobního roztoku kalibrační řady

Číslo roztoku	Zásobní roztok [g]	Koncentrace aditiva [mg/ml]
1		0,08
2	7,5	0,06
3	5	0,04
4	2,5	0,02
5	1,25	0,01
6	0,9375	0,0075
7	0,625	0,005
8	0,3125	0,0025
9	0,125	0,001

Kalibrační roztoky byly podrobeny UV-VIS spektrofotometrii v transmisním módu. V měřeních se vždy proměřovalo spektrum v rozmezí 300-700 nm. Jako blank bylo použito čisté rozpouštědlo. Pro měření byla použita křemenná kyveta s délkou optické cesty 10 mm a vnějšími rozměry 12,5x12,5x45 mm.

3.6 Pracovní postupy zkoumání přídavku a uvolňování aditiv z nanovláknenné vrstvy vytvořené elektrospínem

3.6.1 Příprava pracovních roztoků

Byly připraveny 4 pracovní roztoky s obsahem PHB 3 hm. % v dichlorethanu a 0,1 hm. % aditiva. Roztoky byly připraveny s přídavkem 0,2 hm. % TEABu, kvůli zlepšení vodivosti roztoku.

Hotové roztoky měly obsah 0,9 g PHB. Do zahřívací baňky s plochým dnem bylo naváženo 0,9 g PHB a bylo doplněno příslušné množství rozpouštědla. Roztoky byly zahřívány 3-5 hodin na topném tělese s magnetickou míchačkou do úplného rozpuštění polymeru. Podle potřeby bylo doplněno rozpouštědlo. Do roztoků bylo přidáno 0,09 g TEABu a 0,03g aditiva. Poté byl roztok ještě hodinu míchán magnetickou míchačkou.

3.6.2 Zvlákňování roztoků

Roztoky byly zvlákňovány na elektrospínu Vysokého učení technického v Brně. Roztoky byly zvlákňovány při vzdálenosti elektrod 15 cm, při napětí 15kV a při stabilním průtoku roztoku 15 ± 2 ml/h. Zvlákňování probíhalo, dokud nebyl vypotřebován všechen roztok daného vzorku. Postup přípravy a ukončení zvlákňování byl stejný jako v kapitole 3.2.2.

Vytvořené vrstvy byly sejmuty z alobalu a uschovány k dalšímu zpracování.

3.6.3 Příprava vzorků na měření uvolňování aditiv

Z vytvořených nanovlákných vrstev bylo do každého prostředí odebráno po 3 vzorcích. Kvůli rozpustnosti některých aditiv nebyly provedeny uvolňovací testy všech 4 barviv ve všech 3 prostředích. Tabulka níže popisuje přibližné hmotnosti odebraných vzorků nanovlákných vrstev a taktéž neslučitelné kombinace rozpouštědla a aditiv.

Tabulka 3: Vzorky vrstev dynamiky uvolňování z elektrospínu

	Voda [mg]	Líh [mg]	DMSO [mg]
Amidová čern	3	3	x
Betakaroten	15	x	15
Riboflavin	15	15	12
Azobenzen	x	15	15

Vzorky byly zváženy, umístěny do 5ml odměrných baněk a připraveny na měření dynamiky uvolňování aditiva z nanovlákných struktur.

3.6.4 Měření uvolňování aditiv z nanovlákných vrstev

Vzorky byly proměřovány na spektrofotometrii v transmisním módu. V měřeních se vždy proměřovalo spektrum v rozmezí 300-700 nm. Jako blank bylo použito čisté rozpouštědlo. Pro měření byla použita křemenná kyveta, s délkou optické cesty 10 mm a vnějšími rozměry 12,5x12,5x45 mm.

Měření probíhalo v časových intervalech 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 90; 135; 180; 240; 300 a 360 minut od doplnění odměrné baňky se vzorkem rozpouštědlem.

3.7 Pracovní postupy zkoumání přídatku a uvolňování aditiv z nanovlákné vrstvy vytvořené rotačním zvlákňováním

3.7.1 Příprava pracovních roztoků

Byly připraveny 4 pracovní roztoky s obsahem PHB 2 hm. % v chloroformu a 0,1 hm. % aditiva. Byly naváženy 3 g PHB do zahřívací baňky s plochým dnem a bylo doplněno 147 g rozpouštědla. Roztoky byly zahřívány 3-5 hodin na topném tělese s magnetickou míchačkou

do úplného rozpuštění polymeru. Podle potřeby bylo doplněno rozpouštědlo. Do roztoků bylo přidáno 0,15 g aditiva. Poté byly roztoky ještě hodinu míchány magnetickou míchačkou do úplné homogenizace roztoku.

3.7.2 Zvlákňování roztoků

Zvlákňování probíhalo na rotačním odstředivém zvlákňovacím přístroji. Nejprve byly stěny přístroje obloženy alobalem, pro lepší sundávání nanovláken a kvůli zabránění kontaminací nové vrstvy zbytky předešlých vrstev. Byla zapnuta digestoř, byl zapnut přístroj a postupně byl na rotující střední disk přiléván roztok polymeru s obsahem aditiva. Tento postup byl opakován do vypotřebování pracovního roztoku. Poté byl vypnut zvlákňovač a odtažen digestoř. Vrstva se nechala chvíli dosychat. Po 10 minutách byla nanovláknenná struktura sejmuta ze stěn přístroje a uschována pro další práci.

3.7.3 Příprava vzorků na měření uvolňování aditiv

Obdobně jako v kapitole 3.6.3 bylo z vytvořených nanovláknenných vrstev odebráno do každého prostředí po 3 vzorcích. Hmotnosti odebraných vzorků nanovláknenných vrstev jsou popsány níže v tabulce, jakožto i neslučitelné kombinace rozpouštědla a aditiv. Znovu kvůli rozpustnosti některých aditiv nebyly provedeny uvolňovací testy všech 4 barviv ve všech 3 prostředích.

Tabulka 4: Vzorky vrstev dynamiky uvolňování z rotačního zvlákňování

		Líh [mg]	DMSO [mg]
Amidová čern	3	3	x
Betakaroten	15	x	15
Riboflavin	15	15	12
Azobenzen	x	15	15

Vzorky byly zváženy, umístěny do 5ml odměrných baněk a připraveny na měření dynamiky uvolňování aditiva z nanovláknenných struktur.

3.7.4 Měření uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev

Vzorky byly proměřovány na spektrofotometrii v transmisním módu. V měřeních se vždy proměřovalo spektrum v rozmezí 300-700 nm. Čisté rozpouštědlo bylo použito jako blank. Pro měření byla použita křemenná kyveta, s délkou optické cesty 10 mm a vnějšími rozměry 12,5x12,5x45 mm.

Vzorky byly měřeny v časových intervalech 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 90; 135; 180; 240; 300 a 360 minut od doplnění odměrné banky se vzorkem rozpouštědlem.

3.8 Zpracování a vyhodnocení dat

Zpracování a vyhodnocení dat bylo uskutečněno pomocí programu Microsoft Excel a Photoshop 6.

Vyhodnocení prvních tří částí experimentu probíhalo zaprvé pozorováním a zadruhé, u vzorků se snímky z optického nebo elektronového mikroskopu, měřením velikosti vláken na snímcích. K tomuto účelu bylo vždy vybráno 10 různých nanovláken, která byla přeměřena, a byla určena průměrná tloušťka nanovláken.

U zkoumání dynamiky uvolňování byla použita metoda určení koncentrace pomocí výšky píku. U každého absorpčního spektra daného aditiva byla odečtena hodnota v bodě maximální absorbance s odchylkou 10 nm. Z koncentrace aditiva a absorbance byla vytvořena regresní přímka a určen regresní koeficient, z kterých byl vypočítán obsah modelových barviv ve vzorcích zvlákněných nanovlákněných vrstev a jejich koncentrace. Takto byly vyhodnoceny všechny vzorky ve všech časech a byla vytvořena uvolňovací křivka každého aditiva pro dané prostředí.

4. Výsledky a diskuze

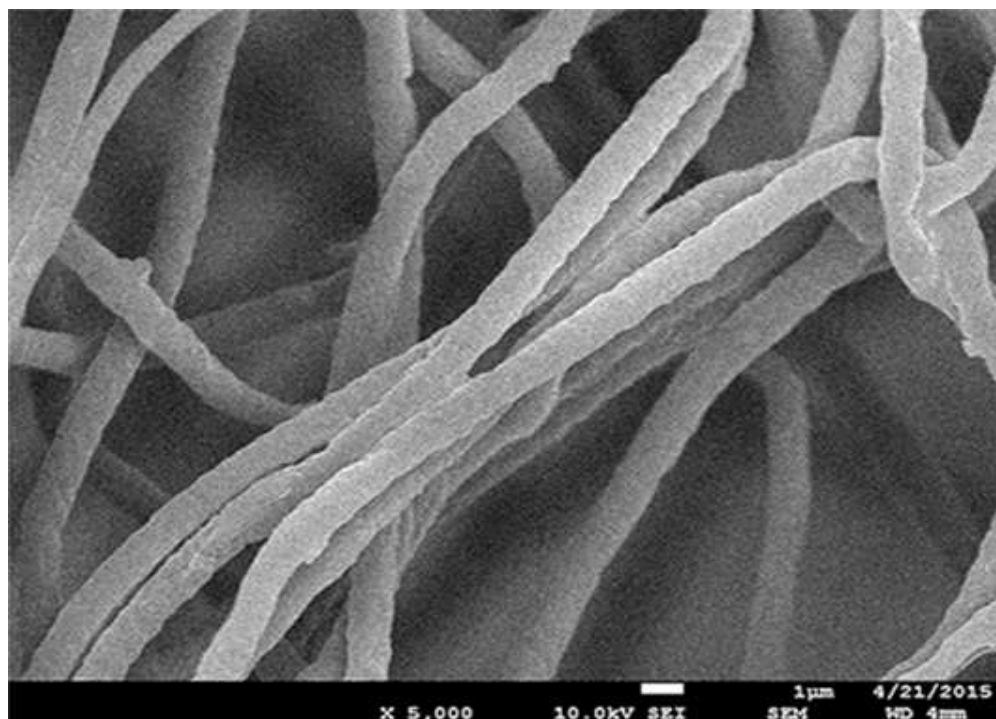
4.1 Optimalizace výroby nanovláken na elektrospínu změnou parametrů zvlákňování

Bylo vytvořeno 9 nanovláknenných vrstev při 9 různých podmínkách. Vrstvy byly zhodnoceny s následujícími poznámkami popsány v tabulce níže.

Tabulka 5: Popis vytvořených vrstev

Název vrstvy	l [cm]	U [kV]	f [ml/h]	Poznámka
L1	15	15	5	Vlákní dobře na střed.
L2	25	19	6	Vlákní dobře, ale vytváří závěsy.
L3	7,5	15	5	Na střed, bez závěsů, možná tvorba perel
L4	21,5	12	7	Vlákní pěkně na střed. Tvorba souvislého vlákna.
L5	21,5	19,4	9	Vlákní rychle, tvorba více proudů.
L6	21,5	7	4	Tvoří pomalu, roztok kape z jehly.
L9	15	15	6	Vrstva na pohled hezká.
L10	15	15	12	Vlákní velmi dobře. Zatím nejlepší.
L11	15	15	18	Jehla kape.

Z vypočítaných dat byla vybrána vrstva L10 a byla pozorována na elektronovém mikroskopu. Zde bylo změřeno 10 vláken a byla vypočítána průměrná velikost tvořených vláken.



Obrázek 11: Vzorek L10

Tabulka 6: Velikost nanovláken vrstvy L10

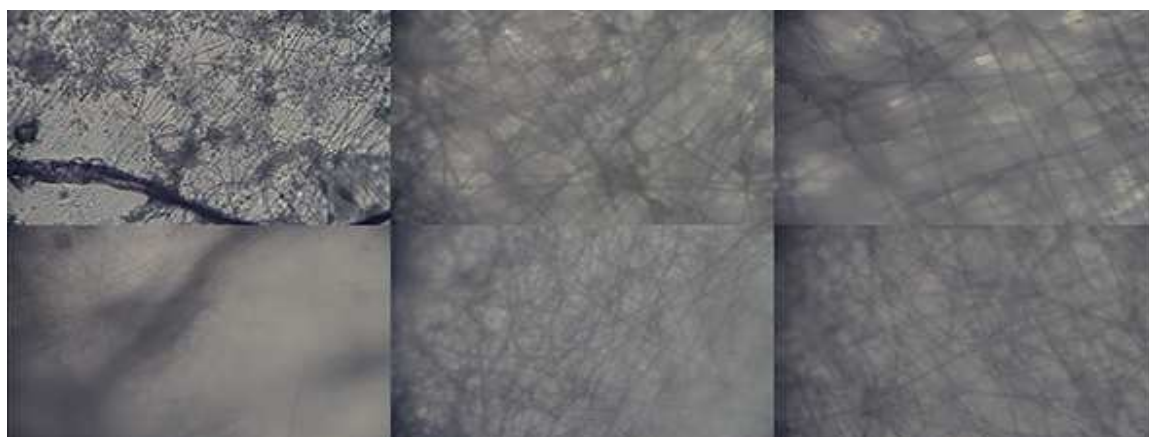
Vlákno	L9 [nm]
1	1000
2	865
3	827
4	885
5	788
6	1038
7	962
8	1038
9	1058
10	712
Průměr	917
Sm. Odch.	120

Ideální tvořená nanovláknenná vrstva byla definována při pracovních podmínkách: vzdálenost elektrod: **15 cm**, napětí mezi elektrodami: **15 kV** a pro stabilní průtok roztoku **15±2 ml/h**. Takto vytvořená vlákna potom mají velikost **917±120 nm** a nejeví známky po perlovém defektu.

4.2 Optimalizace výroby nanovláken na elektrospínou změnou parametrů roztoku

V první části byly tvořeny zvláknovací roztoky PHB v různých rozpouštědlech při různých koncentracích. K tomuto účelu bylo použito chloroformu, dichlorethanu, trichlorethylenu a DMSO. Roztoky byly vytvořeny pouze z chloroformu a dichlorethanu. V trichlorethylenu a DMSO se PHB nerozpouští ani po několikahodinovém zahřívání až do teploty varu rozpouštědel.

Proto bylo vytvořeno pouze 12 roztoků s PHB. Dvě koncentrační řady po 1; 3 a 5 hm. % PHB v roztoku, z čehož každá řada byla vytvořena dvakrát jednou s přídavkem 0,2 hm. % TEABu, kvůli změně vodivosti. Tyto vrstvy byly vytvořeny a nafoceny na optickém mikroskopu.



Obrázek 12: Nanovláknenné vrstvy z chloroformu. Zleva 1; 3; 5 hm. % PHB, spodní řada s přídavkem TEABu

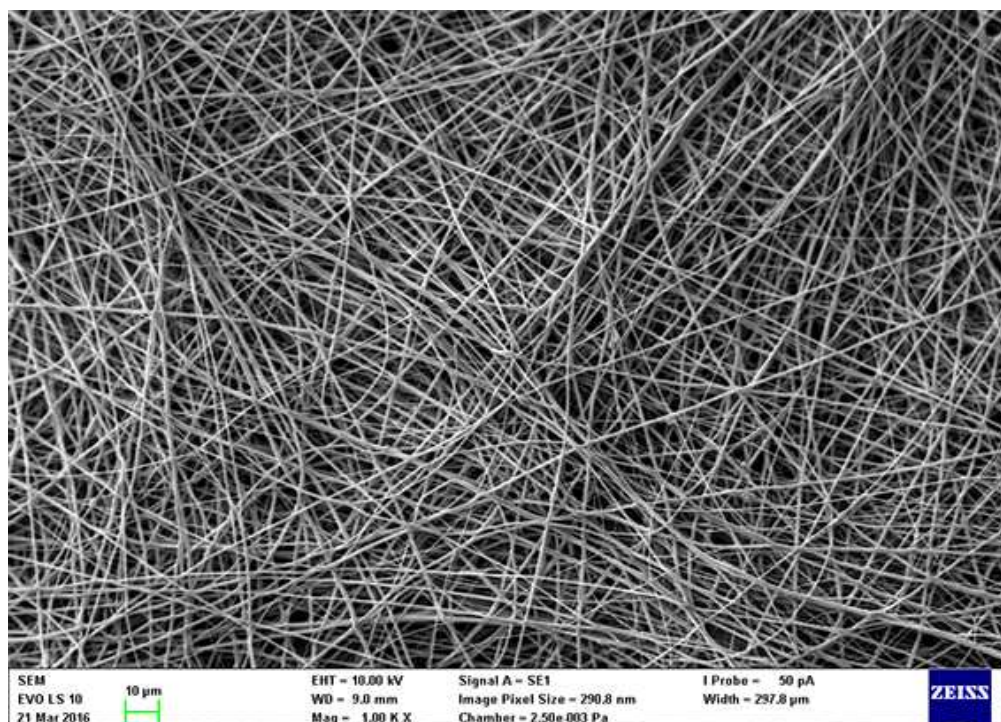


Obrázek 13: Nanovláknenné vrstvy z dichlorethanu. Zleva 1; 3; 5 hm. % PHB, spodní řada s přísávkem TEABu

Z těchto snímků bylo vybráno 7 vrstev, které byly nafoceny na elektronovém mikroskopu. U nich bylo změřeno 6 vláken a byla vypočítána průměrný rozměr vlákna dané struktury.

Tabulka 7: Velikosti jednotlivých vláken nanovláknenných struktur

Vlákno	Dich 3A [nm]	Dich 3B [nm]	Dich 5B [nm]	CH 1B [nm]	CH 3A [nm]	CH 3B [nm]	CH 5B [nm]
1	1170	145,2	387	194,7	2311	863	209,3
2	615,8	285,9	267	533,7	2078	781	422,7
3	1049	377,4	1732	922	2015	1379	973
4	988,7	468,1	677	557	1416	884	2131
5	725,8	740	412	91	1519	884	2350
6	740,1	554	156,3	615	1838	746	753
Průměr	882	428	605	486	1863	923	1140
Sm. odch.	218	209	579	302	343	231	895



Obrázek 14: Nanovláknenná struktura z 3 hm. % roztoku dichloethanu v přísávkem TEABu

Bylo vytvořeno 12 nanovláknenných vrstev, u 7 z nich byly měřeny průměry vláken. Jako nejlepší parametry roztoku pro tvorbu dalších nanovláknenných struktur byl vybrán **3 hm. % roztok dichlorethanu s přídatkem TEABu**. Tato vrstva vznikala nejsnadněji, nejvíce na střed kolektoru, netvořila perlový defekt a měla tendenci tvořit nejvíce homogenní vlákna s průměrem **428±209 nm**. Obdobně na tom byla řada chloroformu, kde nejlepší vlákna tvořil taktéž **3 hm. % roztok s přídatkem TEABu**.

Obecně platilo, že čím byl roztok koncentrovanější, tím měla tendenci vznikat silnější vlákna a naopak. Taktéž bylo pozorováno, že zvýšením vodivosti, potažmo přidáním TEABu, se zlepšila kvalita nanovláknenné vrstvy a rychlost vytváření netkané textilie.

Pro další experimenty byl tedy vybrán **3 hm. % roztok dichlorethanu s přídatkem TEABu**.

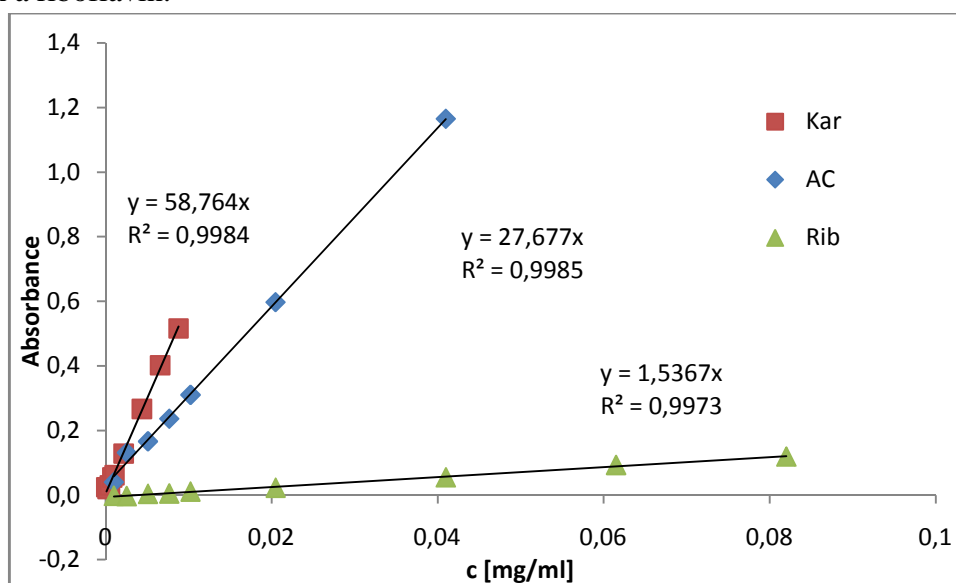
4.3 Zkoumání změny morfologie a hydrofilty nanovláken přídatkem aditiva

Bylo vytvořeno 8 vrstev s koncentrační řadou přídatku pentaerithriolu triakrylátu a polovina nanovláken byla ozářena UV zářivkou. Poté se zkoušela změna hydrofility nanovláknenné vrstvy přikápnutím kapky vody na vrstvu a měřením úhlu kapky. V tomto experimentu nebyla pozorována změna hydrofility, protože kapka se okamžitě vsakovala do nanovláknenné struktury, ve všech zmíněných vzorcích. Změna hydrofility nebyla zřejmě dostatečně silná, aby vyrušila povrchové napětí kapky a snahu vsakovat se do pórů nanovláknenných struktur.

Byla také pozorována možná změna morfologie vláken v závislosti na množství síťovacího činidla, ale mezi vzorky nebyla pozorována žádná změna. Vyfotografované vzorky jsou přiloženy na konci práce v Přílohách.

4.4 Vyhotovení kalibračních řad pro zkoumání uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev

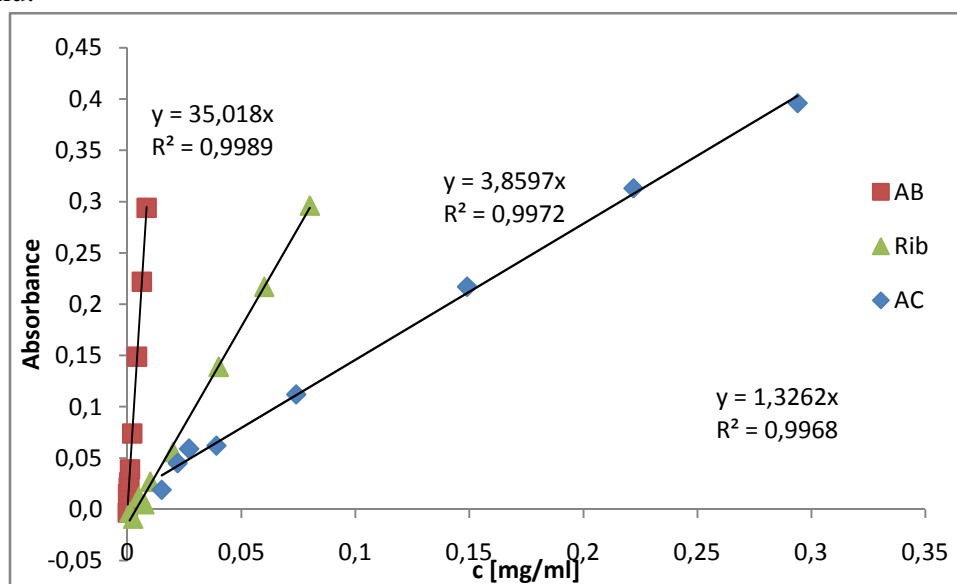
Byly vyhotoveny regresní přímky z kalibračních řad metodou odečtu hodnoty absorbance z píku absorpčního pásu. Pro vodu byly vytvořeny kalibrační křivky pro amidovou čern, betakaroten a riboflavin.



Graf 1: Kalibrační křivky aditiv ve vodě

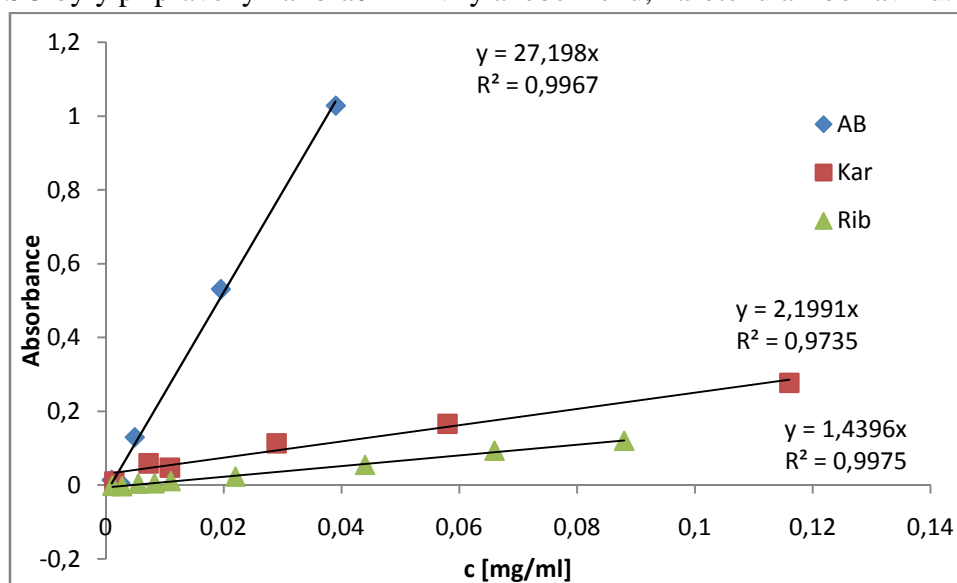
Kvůli dodržení linearity absorpční křivky byly vyšší hodnoty absorbance z měření odstraněny.

Pro prostředí etanolu byly vytvořeny kalibrační křivky aditiv amidové černi, azobenzenu a riboflavinu.



Graf 2: Kalibrační křivky v líhu

V DMSO byly připraveny kalibrační křivky azobenzenu, karotenu a riboflavinu.



Graf 3: Kalibrační křivky v DMSO

Byly vytvořeny kalibrační křivky 4 různých aditiv v 3 různých prostředích. V tabulce níže jsou uvedeny koeficienty regresních přímk kalibračních řad.

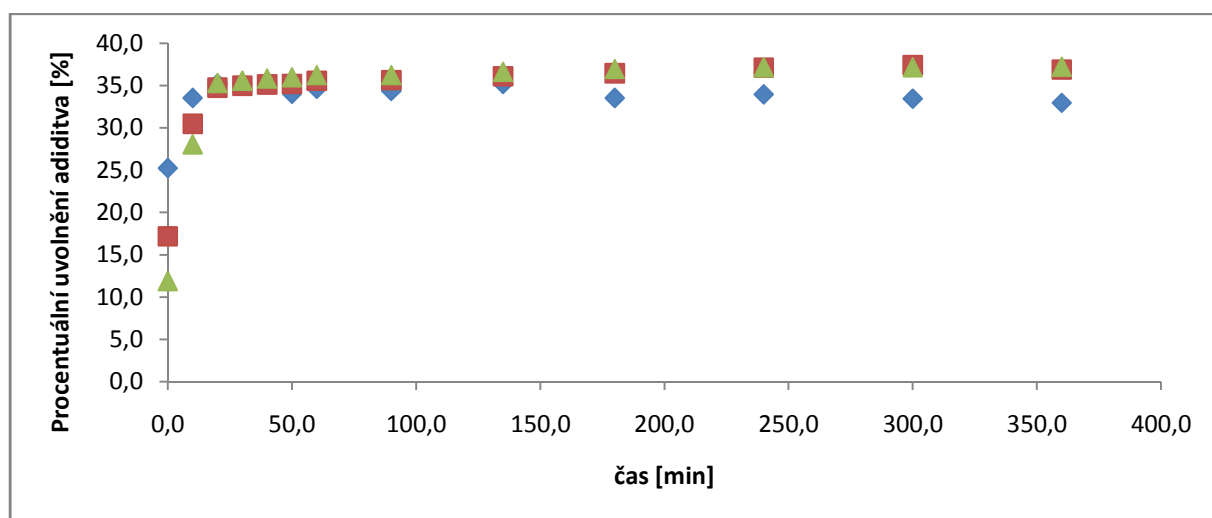
	AC		AB		Rib		Kar	
	x	R	x	R	x	R	x	R
Voda	27,677	0,9985	x	x	1,5367	0,9973	58,764	0,9984
Líh	1,362	0,9968	35,018	0,9989	3,8597	0,9972	x	x
DMSO	x	x	27,198	0,9967	1,4396	0,9975	2,1991	0,9735

Graf 4: Regresní a korelační koeficienty kalibračních křivek

4.5 Zkoumání přidavku a uvolňování aditiv z nanovlákněné vrstvy vytvořené elektrospínem

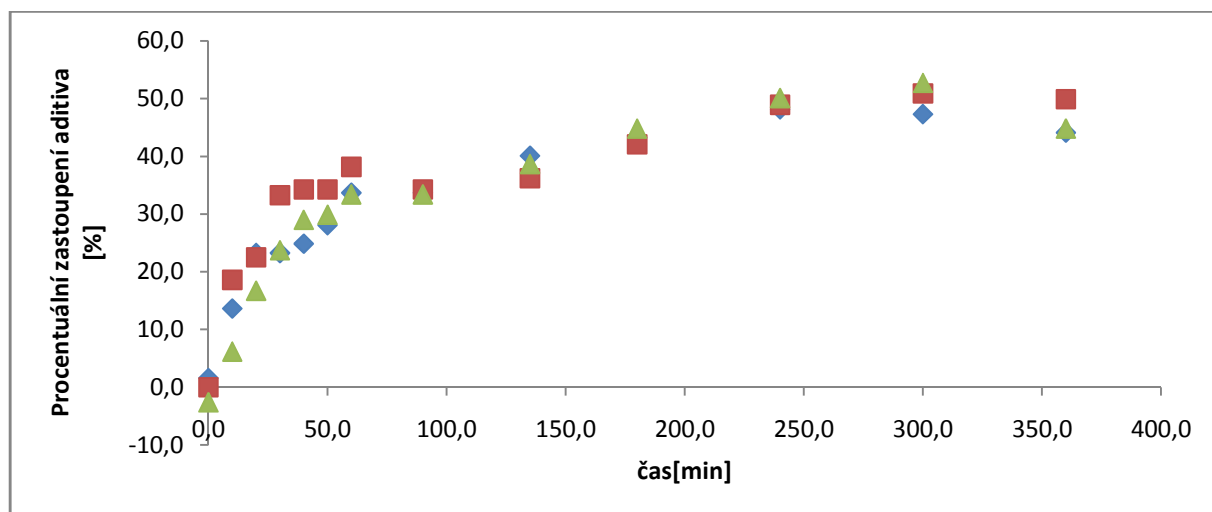
Byly vytvořeny 4 nanovlákněné vrstvy s přidavkem aditiv a bylo pozorováno uvolňování aditiv do různých prostředí v závislosti na čase. Tento experiment je základem pro možné použití nanovlákněných struktur jako nosičů léčiv.

4.5.1 Měření uvolňování aditiv z nanovlákněných vrstev ve vodě



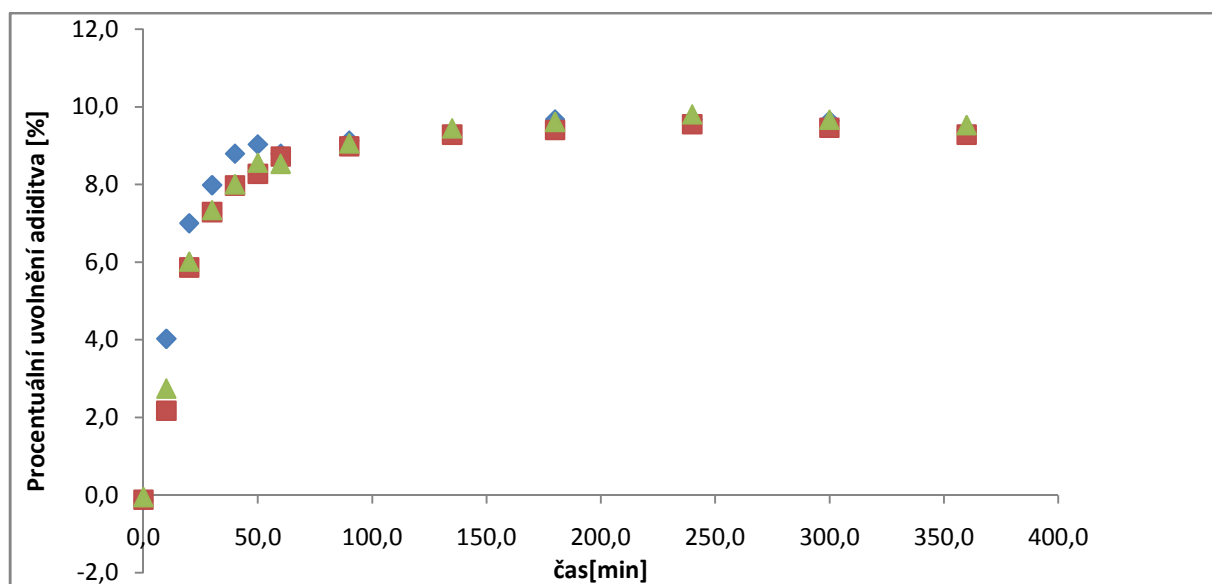
Graf 5: Amidová čern ve vodě

U vzorku amidové černi došlo k uvolnění maximálního množství do vody ve 20. minutě, kdy bylo do roztoku uvolněno $35,06 \pm 0,9$ % zvlákněného aditiva. Zbytek aditiva zůstal navázán na nanovlákněné strukturu.



Graf 6: Betakaroten ve vodě

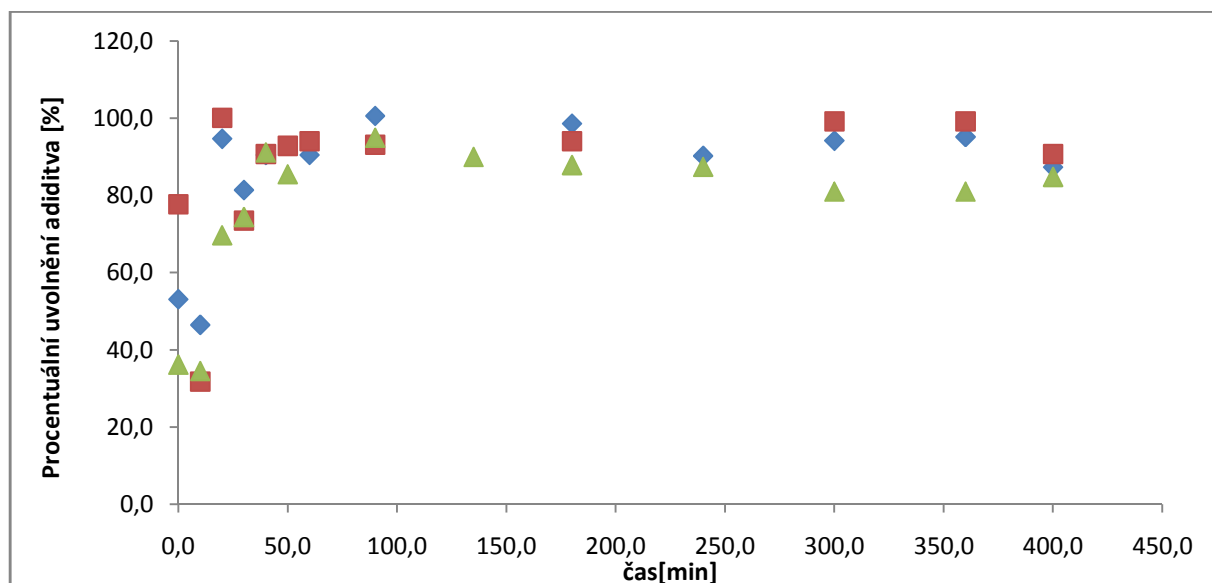
Vzorek s přidáním betakarotenem uvolňoval svoje aditivum rychle do 60. minuty, kdy bylo v roztoku přítomno $35 \pm 2,69$ % aditiva z nanovlákněné struktury. Tato hodnota poté ještě rostla, až do 300. minuty, kdy v roztoku bylo přítomno $50,28 \pm 2,75$ % aditiva.



Graf 7: Riboflavin ve vodě

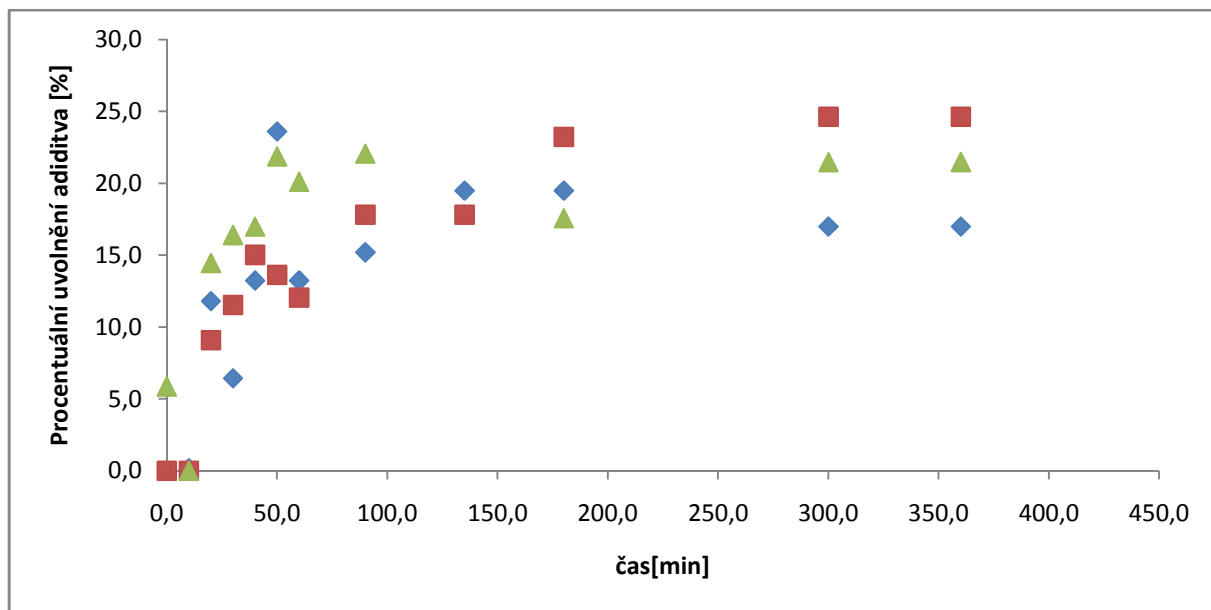
U vzorku riboflavinu bylo dosaženo maximální koncentrace aditiva v roztoku v 60. minutě. V tu chvíli bylo do roztoku uvolněno $8,68 \pm 0,13$ % riboflavinu. V následujícím čase koncentrace riboflavinu v prostředí nestoupala. To může být dáno malou rozpustností riboflavinu ve vodě.

4.5.2 Měření uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev v lihu



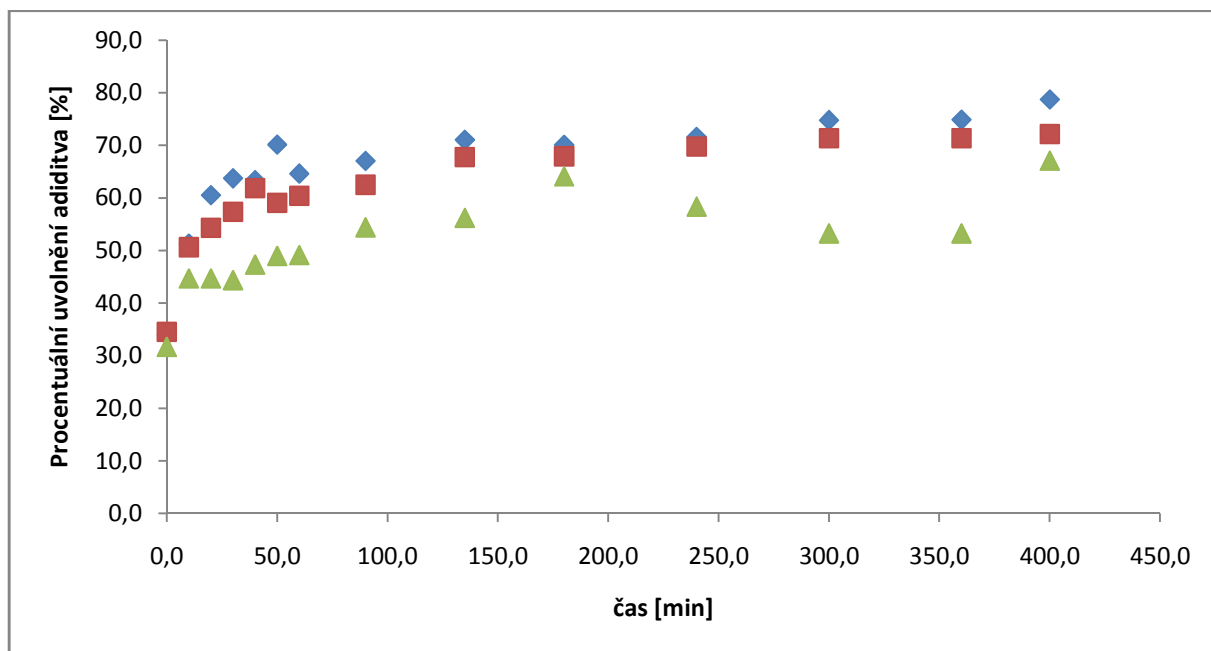
Graf 8: Azobenzen v lihu

U vzorku azobenzenu došlo k uvolnění maximálního množství ve 30. minutě, kdy bylo do roztoku uvolněno $76 \pm 4,3$ % zvlákněného aditiva. Po tomto čase se již další azobenzen do lihu neuvolňoval.



Graf 9: Riboflavin v lihu

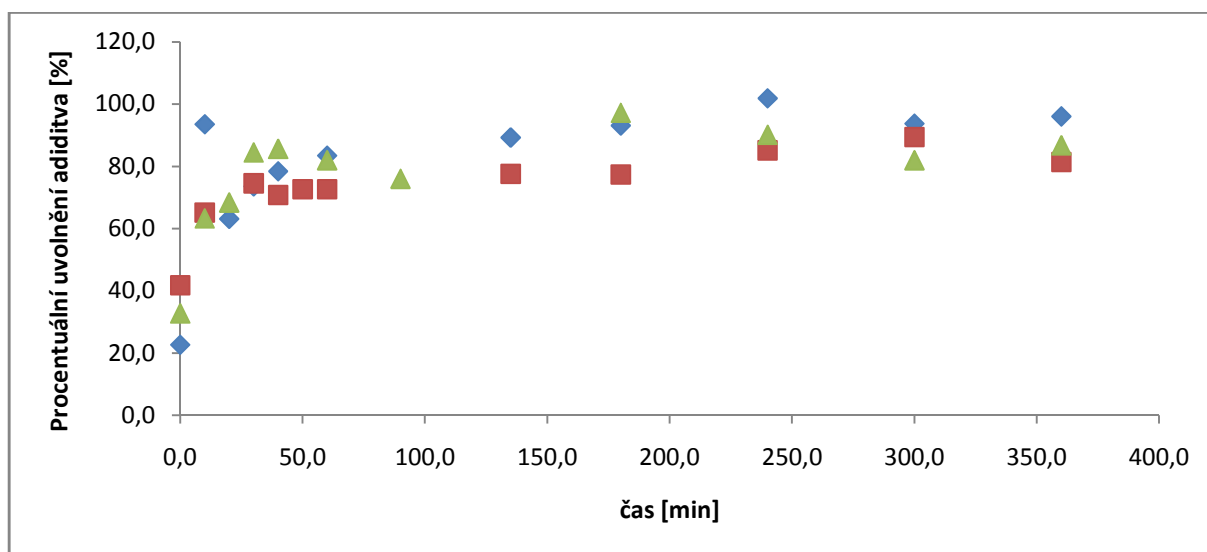
U vzorku riboflavinu bylo dosaženo maximální koncentrace v 50. minutě, kdy bylo do roztoku uvolněno $19,7 \pm 5,3$ % riboflavinu.



Graf 10: Amidová čern v lihu

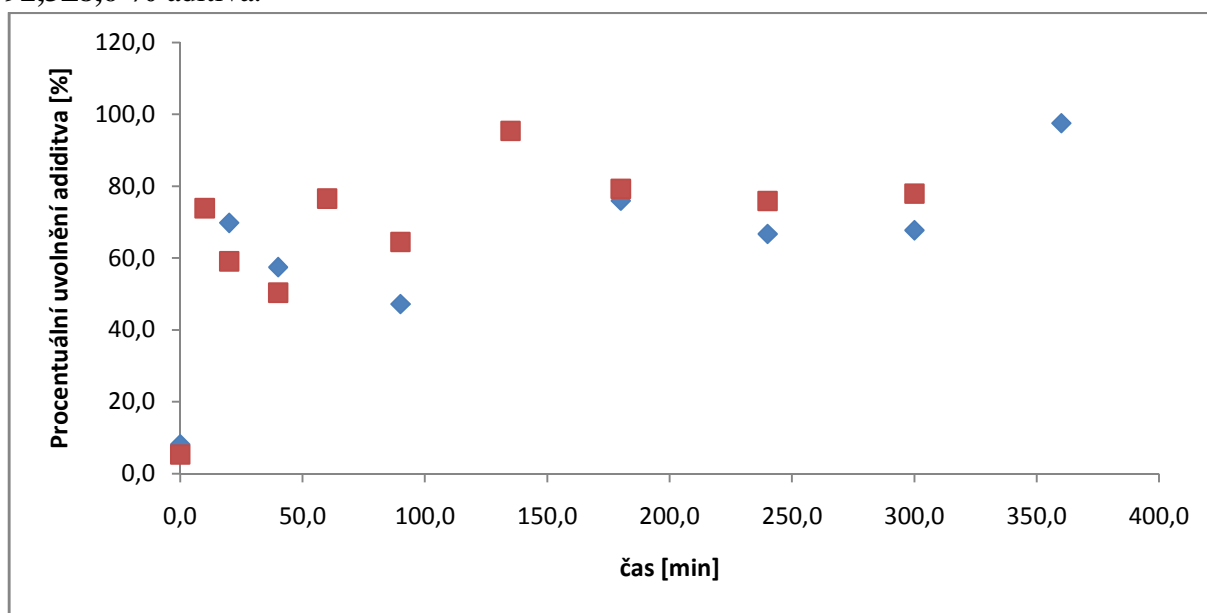
Amidová čern byla rapidním tempem do roztoku uvolňována už ze začátku experimentu až do 60. minuty, kdy bylo uvolněno $58 \pm 8,0$ % aditiva do roztoku. Poté koncentrace ještě mírně stoupala, až v roztoku na konci měření bylo naměřeno $72,6 \pm 5,8$ % amidové černi.

4.5.3 Měření uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev v DMSO



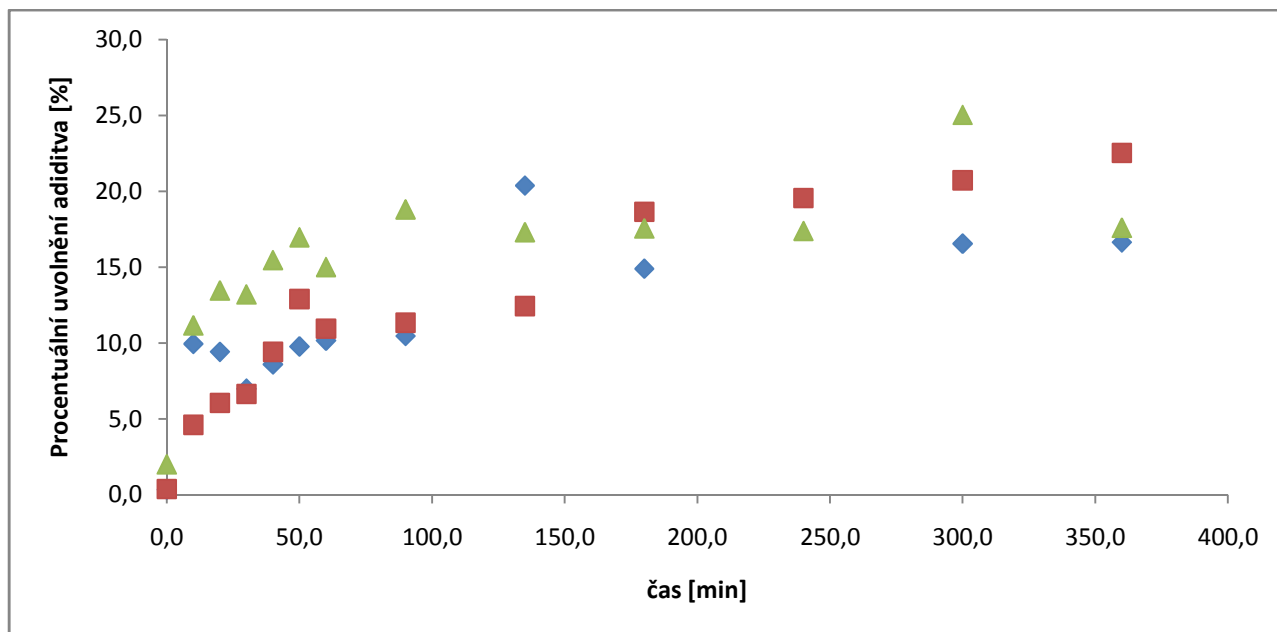
Graf 11: Azobenzen v DMSO

U vzorku azobenzenu bylo pozorováno uvolňování do DMSO do teoretického maxima už v 10. minutě, kdy v roztoku byl přítomno $74,0 \pm 17,0$ % zvlákněného aditiva. V dalším čase koncentrace azobenzenu ještě pomalu stoupala až do 240. minuty, kdy bylo uvolněno $92,3 \pm 8,6$ % aditiva.



Graf 12: Betakaroten v DMSO

U vzorku betakarotenu bylo pozorováno rapidní uvolňování do 20. minuty, kdy bylo do roztoku uvolněno $64,5 \pm 7,6$ % betakarotenu. V průběhu experimentu docházelo k dalšímu uvolňování až do maximálního podílu $100 \pm 3,9$ % zvlákněného aditiva.



Graf 13: Riboflavin v DMSO

U vzorku riboflavinu došlo k uvolnění velkého množství v 10. minutě, kdy bylo do roztoku uvolněno $8 \pm 3,4$ % zvlákněného aditiva. Po tomto čase se riboflavin do prostředí uvolňoval pomaleji až do maximálního podílu uvolněného aditiva $20,7 \pm 4,24$ % v 300. minutě experimentu.

Tabulka 8: Výsledky uvolňování vláken elektrostatického zvláknování

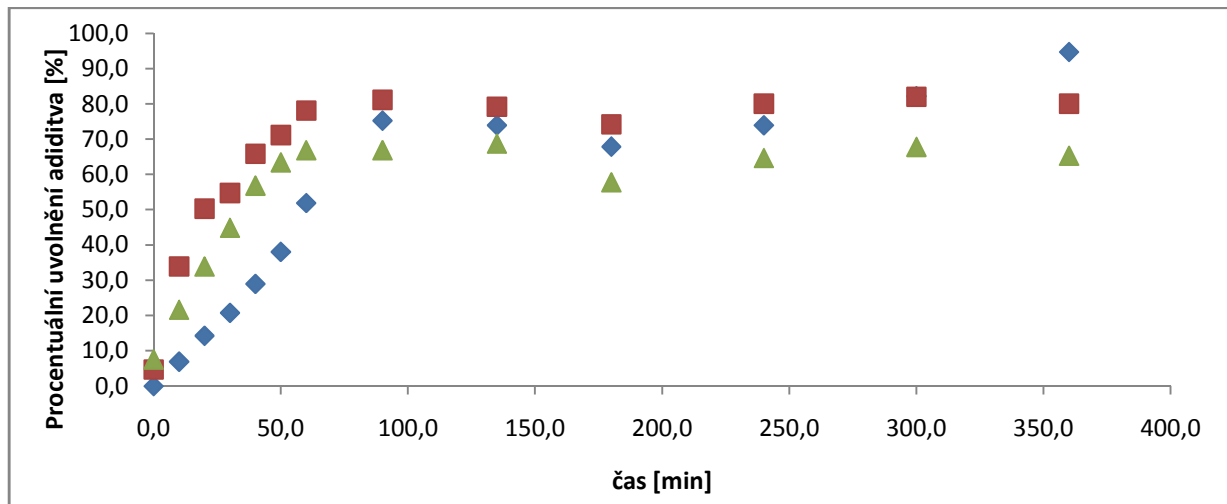
	Voda		Líh		DMSO	
	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]
AB	x	x	30	$76 \pm 4,3$	10	74 ± 17
AC	20	$35 \pm 0,9$	60	$58 \pm 8,0$	x	x
Rib	60	$8,7 \pm 0,13$	50	$19 \pm 5,3$	10	$8 \pm 3,4$
Kar	60	$35 \pm 2,69$	x	x	20	$64 \pm 7,6$

V tabulce výše jsou shrnuty zlomové časy a maximální podíl uvolněného léčiva z nanovlákněných vrstev. Z dat je patrné, že nejrychleji se aditiva uvolňovala do prostředí DMSO. Zde je vidět, že k uvolnění došlo už do 20. minuty experimentu a byla vždy extrahována značná část aditiva, kromě riboflavinu, z čehož můžeme usuzovat možnou interakci mezi molekulou aditiva a řetězcem polymeru. To je podloženo i v prostředí lihu a vody, kde se vždy uvolnilo znatelněji méně riboflavinu, než ostatních aditiv.

Nejpomalejší uvolňování pak bylo pozorováno ve vodném prostředí, kde v případě riboflavinu a betakarotenu došlo k uvolnění až v 60. minutě. Ze všech tří prostředí se do tohoto taktéž uvolňoval nejmenší podíl aditiv.

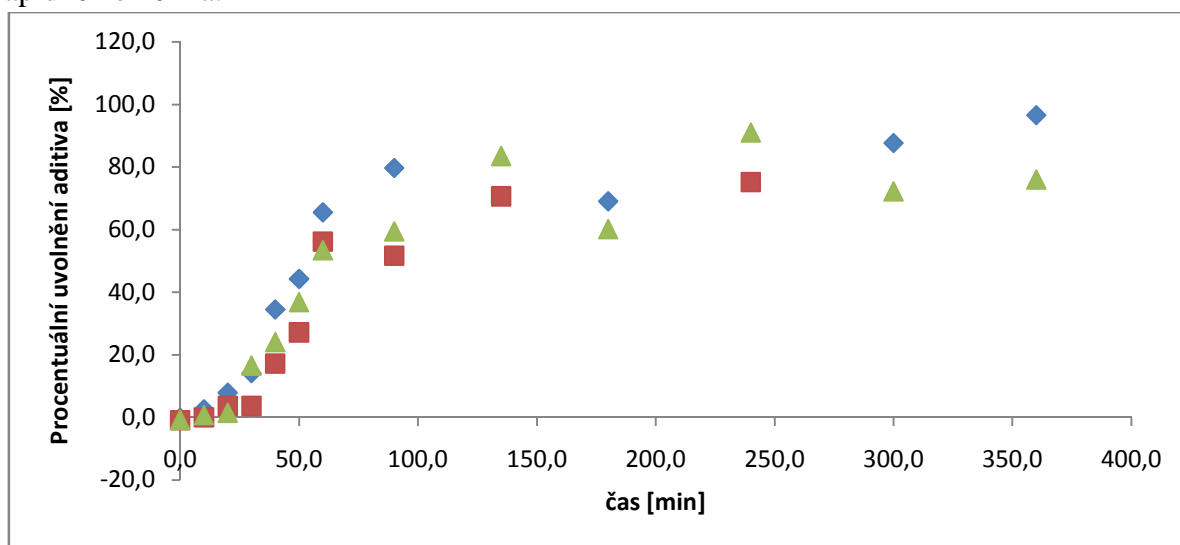
4.6 Zkoumání přidavku a uvolňování aditiv z nanovláknenné vrstvy vytvořené rotačním zvlákňováním

4.6.1 Měření uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev ve vodě



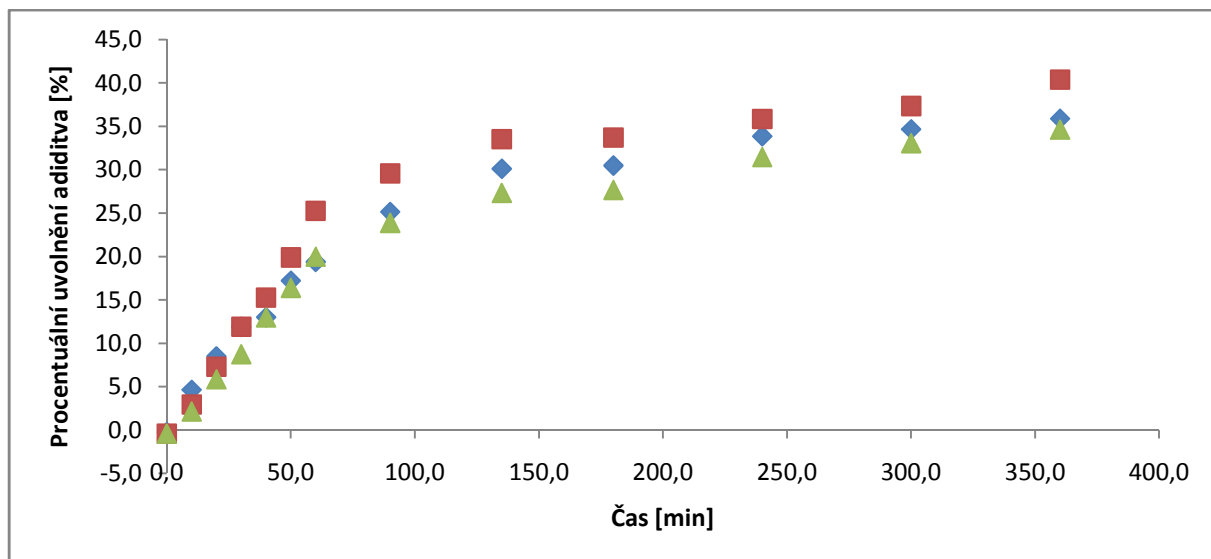
Graf 14: Amidová čern ve vodě

Ze vzorku amidové černi tvořené na rotačním zvlákňovači se maximální dávka aditiva uvolnila v 90. minutě a to v podílu $74 \pm 7,1$ hm. % aditiva. Tato hladina se dále už nijak rapidně neměnila.



Graf 15: Betakaroten ve vodě

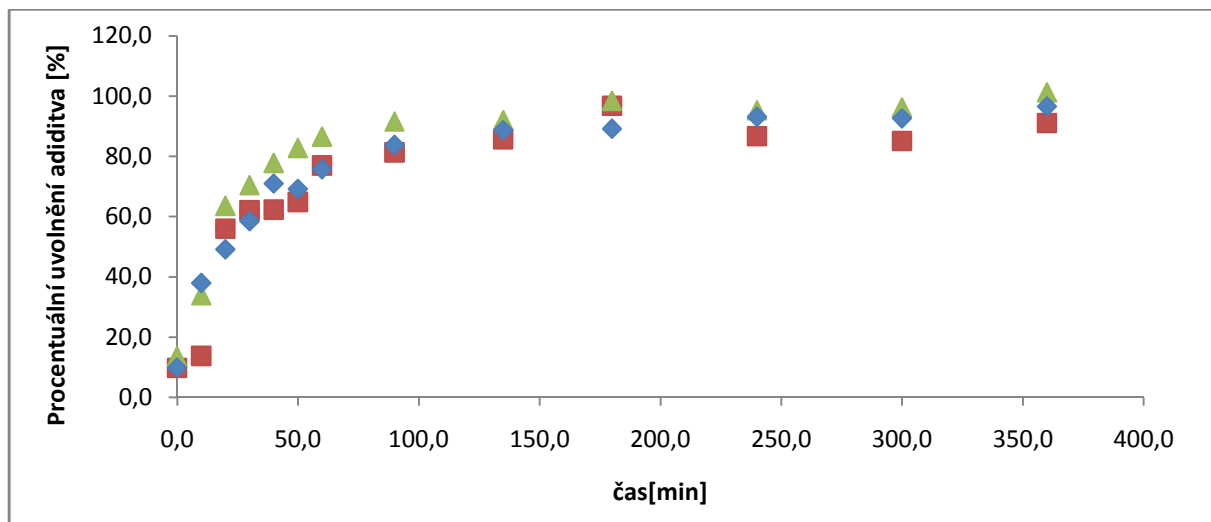
U vzorku betakarotenu bylo pozorováno uvolnění maximálního podílu aditiva v 135. minutě a to 77 ± 9 hm. % aditiva.



Graf 16: Riboflavin ve vodě

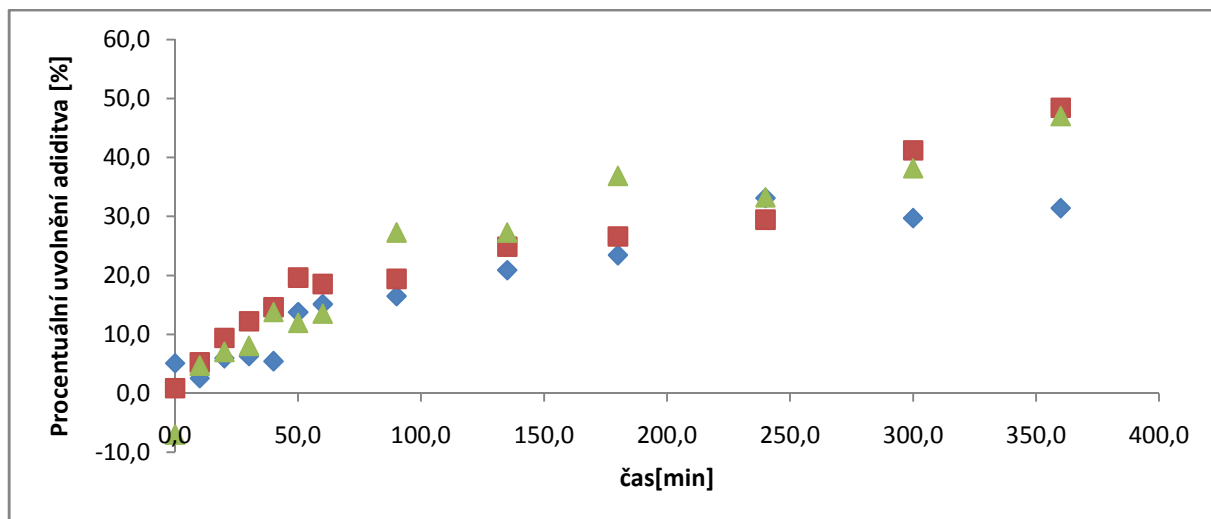
Vzorek riboflavinu vykazoval pozvolné a rovnoměrné uvolňování aditiva **0,58 hm. %/min** do 135. minuty, do koncentrace **30±3 hm. %** riboflavinu. Poté se už koncentrace nijak zvlášť neměnila. Vystoupala do maxima **36,9±3 hm. %** aditiva.

4.6.2 Měření uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev v lihu



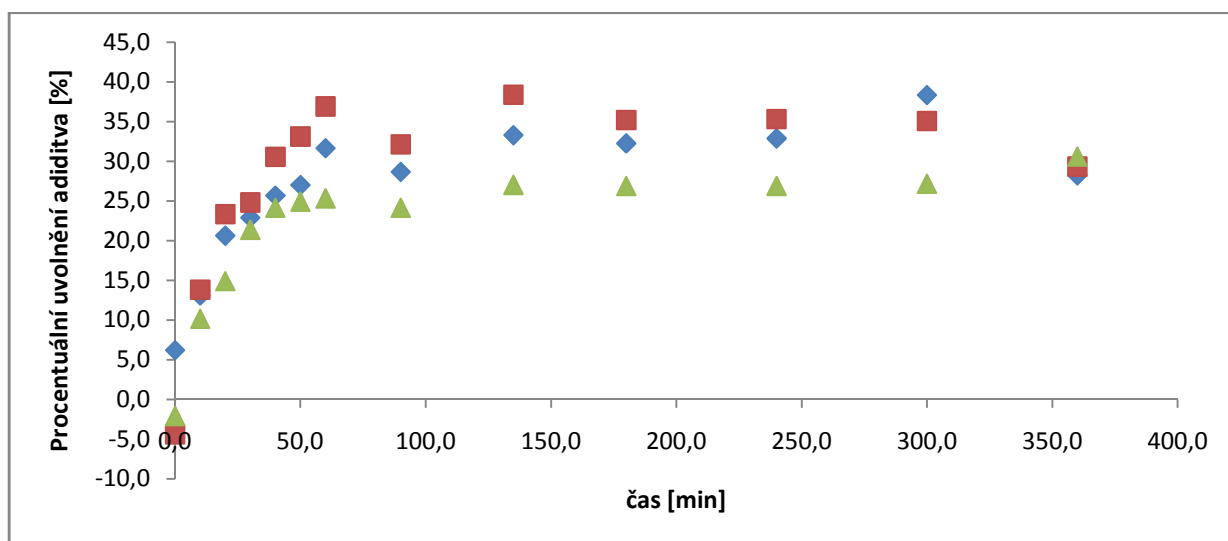
Graf 17: Azobenzen v lihu

Azobenzen se do prostředí uvolňoval rapidním tempem do 90. minuty experimentu. V 90. minutě bylo uvolněno maximální množství azobenzenu a to **85±5,3 hm. %** aditiva. V dlouhodobém uvolňování bylo v roztoku naměřeno ještě pomalu se zvyšující množství až do podílu **96,2±5,1 hm. %**.



Graf 18: Riboflavin v lihu

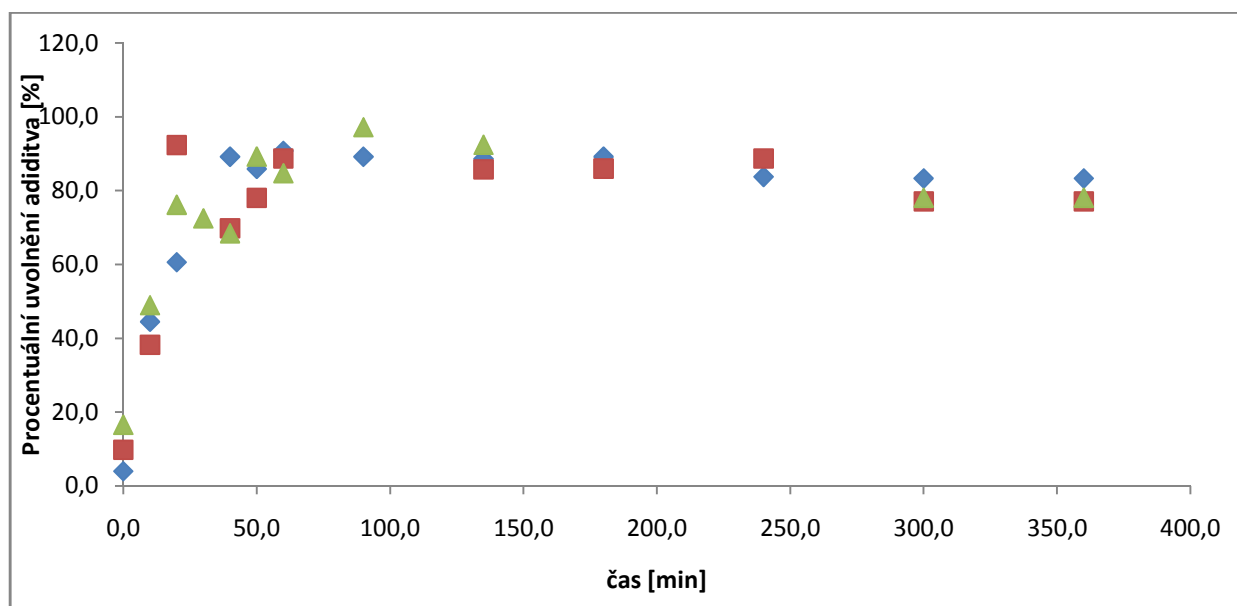
U vzorku riboflavinu byl pozorován první prudký nárůst koncentrace aditiva do 60. minuty, kdy bylo v prostředí **21±5,5 hm. %** aditiva. Poté bylo pozorováno pozvolnější uvolňování a to až do 360. minuty a koncentrace **42,2±9,4 hm. %**.



Graf 19: Amidová čern v lihu

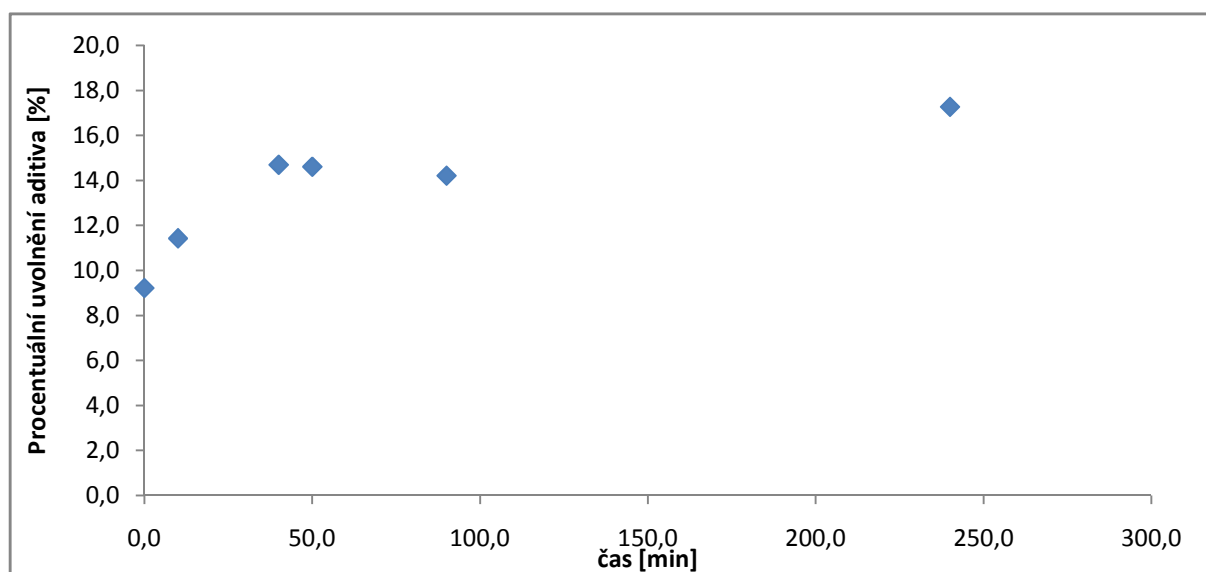
U vzorku amidové černi se maximální dávka aditiva uvolnila v 60. minutě. V podílu **28±4 hm. %** aditiva. Další amidová čern se už do prostředí neuvolňovala.

4.6.3 Měření uvolňování aditiv z nanovláknenných vrstev v DMSO



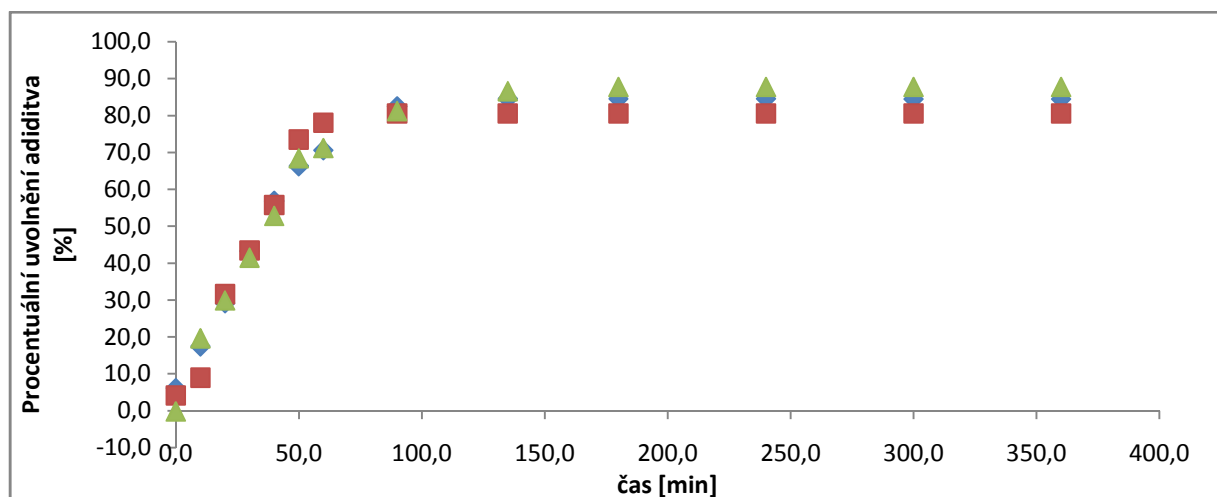
Graf 20: Azobenzen v DMSO

U vzorku azobenzenu bylo pozorováno uvolňování do DMSO do teoretického maxima v 20. minutě. V tuto chvíli bylo v roztoku přítomno **76±15,8 hm. %** zvlákněného aditiva. Další uvolňování již nebylo naměřeno a prostředí si uchovalo stejný podíl azobenzenu.



Graf 21: Betakaroten v DMSO

Z dat naměřených pro betakaroten můžeme vyčíst, že uvolňování dosáhlo svého maxima v 50. minutě, kdy se do roztoku uvolnilo **14±2,7 hm. %** aditiva



Graf 22: Riboflavin v DMSO

U vzorku riboflavinu bylo pozorováno pozvolné a rovnoměrné uvolňování aditiva do 60. minuty, do koncentrace **73,3±4,1 hm. %** riboflavinu. Po dosažení této hodnoty se další riboflavin do roztoku už neuvolňoval.

Tabulka 9: Výsledky uvolňování vláken z rotačního spinneru

	Voda		Líh		DMSO	
	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]
AB	x	x	90	85±5,3	20	76±15,8
AC	90	74±7,1	60	28±4	x	x
Rib	135	30±3	60	21±5,5	60	73±4,1
Kar	135	77±9	x	x	50	14±2,7

V tabulce jsou sepsány zlomové časy a maximální podíly uvolněných aditiv ve třech různých prostředích nanovláknenných vrstev tvořených rotačním zvlákňováním. Z tabulky vyčteme, že k nejrychlejšímu největšímu uvolňování aditiv docházelo v prostředí DMSO. To je pochopitelné, protože DMSO se používá jako univerzální rozpouštědlo pro polární i nepolární látky.

Nejpomalejší uvolňování pak probíhalo ve vodě. Zde se u amidové černě a betakarotenu uvolnilo přibližně ¾ navázaného barviva, v případě riboflavinu však pouze 1/3.

4.7 Porovnání uvolňování aditiv z nanovlákněné vrstvy vytvořené elektrospinem a rotačním zvlákňováním

Byly vytvořeny 4 nanovlákněné vrstvy dvěma různými metodami, pro porovnání případné interakce polymer-aditivum-prostředí.

V případě vodného prostředí lze pozorovat trend, že zatímco ostatní aditiva se uvolňovala postupně až do 60. respektive 135. minuty, amidová čerň se do roztoku uvolnila v daleko kratším čase.

Také můžeme říci, že maximální podíl aditiva uvolněného do roztoku je v případě elektrospinnu 35 hm. % a v případě rotačního zvlákňování 75 hm. %. Z vláken se tedy nikdy neuvolní celá část zvlákněného aditiva.

Tabulka 10: Výsledky uvolňování aditiv do vody a líhu

	Voda				Láh			
	Elektrospin		Rotační		Elektrospin		Rotační	
	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]
AB	x	x	x	x	30	76±4,3	90	85±5,3
AC	20	35±0,9	90	74±7,1	60	58±8,0	60	28±4
Rib	60	8,7±0,13	135	30±3	50	19±5,3	60	21±5,5
Kar	60	35±2,69	135	77±9	x	x	x	x

Tabulka 11: Výsledky uvolňování aditiv do DMSO

	DMSO			
	Elektrospin		Rotační	
	čas [min]	podíl [hm. %]	čas [min]	podíl [hm. %]
AB	10	74±17	20	76±15,8
AC	x	x	x	x
Rib	10	8±3,4	60	73±4,1
Kar	20	64±7,6	50	14±2,7

Dále při porovnání dat z vodného prostředí můžeme říci, že vlákna z rotačního spinneru uvolňovala více aditiva v delším časovém úseku. Tento trend můžeme pozorovat jak v prostředí vody a etanolu, tak v prostředí DMSO.

5. Závěr

Cílem této práce bylo optimalizovat přípravu a nanovlákněných struktur na elektrospinnu Fakulty chemické z přírodního biopolymeru polyhydroxy butyrátu, definovat připravené vrstvy a modifikovat je pro použití v průmyslu. K tomuto účelu byla měřena dynamika uvolňování aditiv přidaných do nanovlákněných struktur do 3 různých prostředí.

V prvním kroku této práce byly definovány základní podmínky zvlákňovacího procesu. Ze série 9 testovaných podmínek nakonec byly vybrány parametry pro přípravu nanovlákněných struktur: napětí mezi elektrodami: **15 kV**, vzdálenost elektrod **15 cm** a dávkování zvlákňovacího roztoku: **12-17 ml/h**.

Z těchto výsledků byla provedena optimalizace zvlákňovacího roztoku. Byla použita 4 různá rozpouštědla: chloroform, dichlorethan, trichlorethen a DMSO. Z chloroformu a dichlorethanu byly vytvořeny roztoky se vzrůstající koncentrací PHB a druhá série s přídavkem TEABu. Z trichlorethenu a DMSO zvlákňovací roztoky nebyly připraveny, protože PHB se v těchto prostředích nerozpouští.

Z naměřených dat poté byly vybrány reprezentativní vzorky, které byly sledovány pod elektronovým mikroskopem. Snímky z těchto pozorování jsou v příloze této práce. Nakonec byl pro další experimenty vybrán **3 hm. % roztok PHB v dichlorethanu s 0,2 hm. % přídavkem TEABu**. Tato nanovlákněná vrstva měla nejmenší vlákna s nejmenším rozptylem rozměru **428±209 nm**. Navíc tato nanovlákněná vrstva nejevila žádný z možných defektů a byla nejsnadněji tvořena. To ji dává velký potenciál pro využití při výrobě v průmyslovém měřítku.

Dále byl proveden experiment s modifikací nanovlákněné vrstvy zesíťováním, pomocí síťovacího činidla a záření UV. Bylo vytvořeno 8 nanovlákněných vrstev se vzrůstající koncentrační řadou pentaerithriolu triakrylátu. Vrstvy byly rozstříhány napůl a polovina byla ozářena. Přídavek síťovacího činidla byl buď malý, nebo došlo k degradaci činidla průchodem elektrostatickým polem, protože při pozorování nanovlákněných struktur pod mikroskopem a při měření kontaktního úhlu, nebyly pozorovány rozdíly mezi jednotlivými vrstvami.

V poslední části této práce byly vytvořeny vrstvy s přídavkem 4 různých aditiv, 2 různými metodami přípravy a bylo měřeno uvolňování přidaných látek z nanovlákněných struktur do 3 různých prostředí. Podrobné výsledky tohoto experimentu jsou uvedeny výše, ale bylo zjištěno, že nanovlákněná vytvořená pomocí elektrostatického zvlákňování uvolňují aditiva **dříve** než nanovlákněná vytvořená pomocí rotačního zvlákňování. Také bylo zjištěno, že ze struktur tvořených elektrospinnem se uvolňuje **méně** aditiva, než z nanovláken tvořených rotačně.

Touto prací byla shrnuta optimalizace přípravy nanovláken na pokusném elektrospinnu v laboratorních podmínkách. V dalším kroku výzkumu by se experimenty přesunuly do poloprodučního měřítka, aby bylo možno vytvářet nanovlákněné struktury v objemech, které jsou potřeba pro průmyslové použití. Experimenty s uvolňováním modelových aditiv taktéž poskytly základní data pro modifikaci těchto vláken aktivními látkami, s nimiž by tento typ experimentu byl finančně nákladný. Protože byla použita 4 různá aditiva, je možno ze struktur budoucích použitých látek odhadnout jejich chování v modelové situaci. Konečným krokem výzkumu by pak měl být produkt schopný řízeného uvolňování.

6. Seznam zkratek

PHA	Polyhydroxy alkanoát
PHB	Polyhydroxy butyrát
UV-Vis	Ultraviolet-Visible (Ultrafialové-Viditelné)
bFGF	Fibroblastický růstový faktor
EGF	Epidermální růstový faktor
PHVB	Polyhydroxyvalerát
ECM	Extracelulární matrix
FAD	Flavinadeninmononukleotid
FMN	Flavinmononukleotid
CH	Chloroform
DiCh	Dichlorethan
DMSO	Dimethyl sulfoxid
TEAB	Tetraethylamin bromid
AC	Amidová čern
AB	Azobenzen
Rib	Riboflavin
Kar	Betakaroten

7. Reference

- [1] Nagy ZK, Zsombor K.; Balogh A, Vajna B, Farkas A, Patyi G, Kramarics A, Marosi G (2011). "Comparison of Electrospun and Extruded Soluplus-Based Solid Dosage Forms of Improved Dissolution". *Journal of Pharmaceutical Sciences* **101** (1): 322–32. online: [10.1002/jps.22731](https://doi.org/10.1002/jps.22731). PMID 21918982 Pravidla pro zpracování kvalifikační práce, poslední revize 22.2.2008, dostupné z: http://www.fch.vutbr.cz/media/docs/vskp_2008.pdf
- [2] YOUNG JU, Son. Therapeutic applications of electrospun nanofibers for drug delivery systems. *Archives of Pharmacal Research* [online]. 2014, roč. 37, č. 1
- [3] GREINER, Andreas a Joachim H. WENDORFF. Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2007, **46**(30), 5670-5703 [cit. 2017-04-27]. DOI: 10.1002/anie.200604646. ISSN 14337851. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200604646>
- [4] ESTRETCHING. *Bioinicia* [online]. [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <http://www.bioinicia.com/technology-2/>
- [5] RAMAKRISHNA, Seeram. *An introduction to electrospinning and nanofibers*. Hackensack, NJ: World Scientific, c2005. ISBN 978-981-256-415-3.
- [6] WANG, Shu-Gen, Xin JIANG, Peng-Cheng CHEN, An-Guo YU, Xiao-Jun HUANG, James A. CARDELLI, D. Patrick O'NEAL a Yuri M. LVOV. Preparation of Coaxial-Electrospun Poly[bis(p-methylphenoxy)]phosphazene Nanofiber Membrane for Enzyme Immobilization. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2012, vol. 13, issue 12, s. 14136-14148 . DOI: 10.3390/ijms131114136. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/13/11/14136/>
- [7] YU, D.G., X. WANG, X.Y. LI, W. CHIAN, Y. LI, Y.Z. LIAO, Xuesi CHEN a Xiabin JING. Electrospun biphasic drug release polyvinylpyrrolidone/ethyl cellulose core/sheath nanofibers. *Acta Biomaterialia* [online]. 2013, vol. 9, issue 3, s. 5665-5672 DOI: 10.1016/j.actbio.2012.10.021.
- [8] CHOI, Ji Suk, Hyuk Sang YOO, Peng-Cheng CHEN, An-Guo YU, Xiao-Jun HUANG, James A. CARDELLI, D. Patrick O'NEAL a Yuri M. LVOV. Pluronic/chitosan hydrogels containing epidermal growth factor with wound-adhesive and photo-crosslinkable properties. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2010, 95A, issue 2, s. 564-573. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.a.32848>
- [9] Buzgo M., Vysloužilová L., Míčková A. , Benešová J., Pokorná H., Lukáš D. , Amler E. *HLADINOVÉ KOAXIÁLNÍ ZVLÁKNOVÁNÍ PRO MASIVNÍ PRODUKCI NANOVLÁKEN DRUHÉ GENERACE* [online]. In: . s. 21 [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: http://lekbiofyz.upol.cz/pagedata_cz/konference/90-hladinove-koaxialni-zvlaknovani-pro-masivni-produkci.pdf

- [10] MELLADO, Paula, Holly A. MCILWEE, Mohammad R. BADROSSAMAY, Josue A. GOSS, L. MAHADEVAN a Kevin KIT PARKER. A simple model for nanofiber formation by rotary jet-spinning. *Applied Physics Letters* [online]. 2011, **99**(20), 203107- [cit. 2017-04-27]. DOI: 10.1063/1.3662015. ISSN 0003-6951. Dostupné z: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.3662015>
- [11] BADROSSAMAY, Mohammad R., Kartik BALACHANDRAN, Andrew K. CAPULLI, et al. Engineering hybrid polymer-protein super-aligned nanofibers via rotary jet spinning. *Biomaterials* [online]. 2014, **35**(10), 3188-3197 [cit. 2017-04-27]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.072. ISSN 01429612. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961213015688>
- [12] YANILMAZ, Meltem a Xiangwu ZHANG. Polymethylmethacrylate/Polyacrylonitrile Membranes via Centrifugal Spinning as Separator in Li-Ion Batteries. *Polymers*. 2015, **7**(4), 629-643. DOI: 10.3390/polym7040629. ISSN 2073-4360. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/7/4/629/>
- [13] *Polyhydroxyalkanoate* [online]. [cit. 2015-05-14]. Dostupné z: <http://www.bioplastics.org/en/information--knowledge-a-market-know-how/bioplastic-types/polyhydroxyalkanoates>
- [14] MASAELI, Elahe, Mohammad MORSHED, Mohammad Hossein NASR-ESFAHANI, Saeid SADRI, Janneke HILDERINK, Aart VAN APELDOORN, Lorenzo MORONI a Thomas CLAUDEPIERRE. 2013-2-27. Fabrication, Characterization and Cellular Compatibility of Poly(Hydroxy Alkanoate) Composite Nanofibrous Scaffolds for Nerve Tissue Engineering. *PLoS ONE*. **8**(2): -. DOI: 10.1371/journal.pone.0057157. ISSN 1932-6203.
- [15] XU, Xian-Yi, Xiao-Tao LI, Si-Wu PENG, Jian-Feng XIAO, Chao LIU, Aart FANG, Kevin C. CHEN, Lorenzo MORONI a Thomas CLAUDEPIERRE. 2010. Socioeconomic renovation in Viet Nam: the origin, evolution, and impact of doi moi. *Biomaterials*. **31**(14): e57157-. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.132. ISSN 01429612. Dostupné také z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0057157>
- [16] Azobenzene. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Azobenzene>
- [17] Amido_black_10B. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Amido_black_10B
- [18] Riboflavin. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Riboflavin>
- [19] Carotene. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Carotene>

8. Reference obrázků

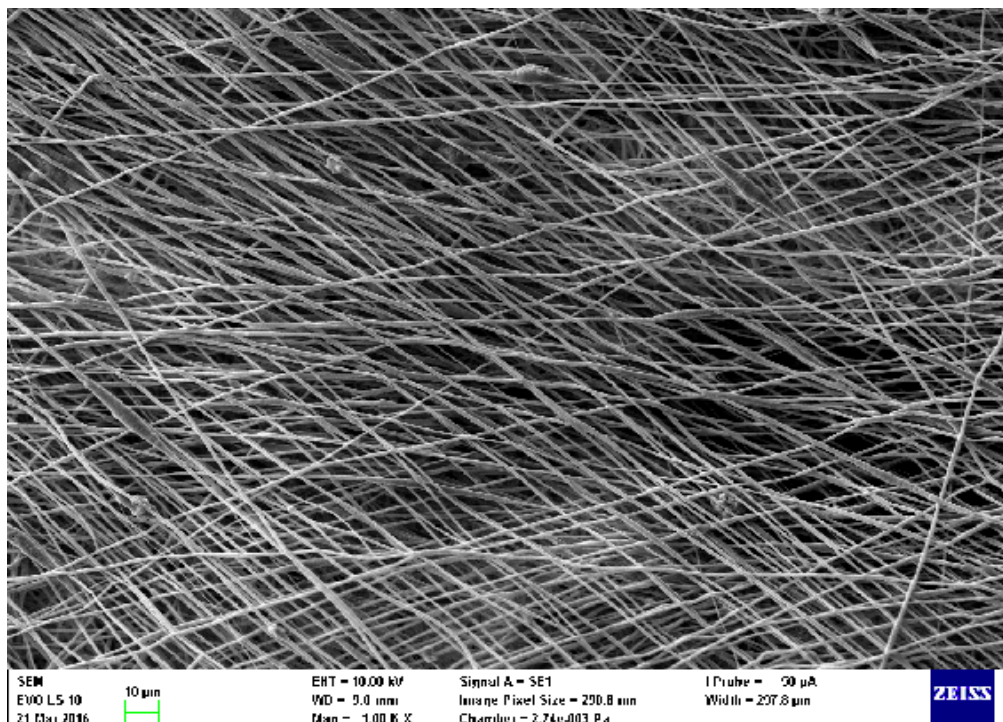
- Obr. 1 - RENEKER, Darrell H. a Alexander L. YARIN. Electrospinning jets and polymer nanofibers. *Polymer* [online]. 2008, **49**(10), 2387-2425 [cit. 2017-04-27]. DOI: 10.1016/j.polymer.2008.02.002. ISSN 00323861. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386108001407>
- Obr. 2 - ZHU, Ning a Xiongbiao CHE. Biofabrication of Tissue Scaffolds. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications* [online]. InTech, 2013 [cit. 2017-04-27]. DOI: 10.5772/54125. ISBN 978-953-51-1051-4. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-biomaterials-science-and-biomedical-applications/biofabrication-of-tissue-scaffolds>
- Obr. 3 - ESTRETCHING. *Bioinicia* [online]. [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <http://www.bioinicia.com/technology-2/>
- Obr. 4 - RAMAKRISHNA, Seeram. *An introduction to electrospinning and nanofibers*. Hackensack, NJ: World Scientific, c2005. ISBN 978-981-256-415-3.
- Obr. 5 - Buzgo M., Vysloužilová L., Míčková A., Benešová J., Pokorná H., Lukáš D., Amler E. *HLADINOVÉ KOAXIÁLNÍ ZVLÁKŇOVÁNÍ PRO MASIVNÍ PRODUKCI NANOVLÁKEN DRUHÉ GENERACE* [online]. In: . s. 21 [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: http://lekbiofyz.upol.cz/pagedata_cz/konference/90-hladinove-koaxialni-zvlaknovani-pro-masivni-produkci.pdf
- Obr. 6 - YANILMAZ, Meltem a Xiangwu ZHANG. Polymethylmethacrylate/Polyacrylonitrile Membranes via Centrifugal Spinning as Separator in Li-Ion Batteries. *Polymers*. 2015, **7**(4), 629-643. DOI: 10.3390/polym7040629. ISSN 2073-4360. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/7/4/629/>
- Obr. 7 - Azobenzene. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Azobenzene>
- Obr. 8 - Amido_black_10B. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Amido_black_10B
- Obr. 9 - Riboflavin. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Riboflavin>
- Obr. 10 - Carotene. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Carotene>

9. Seznam příloh

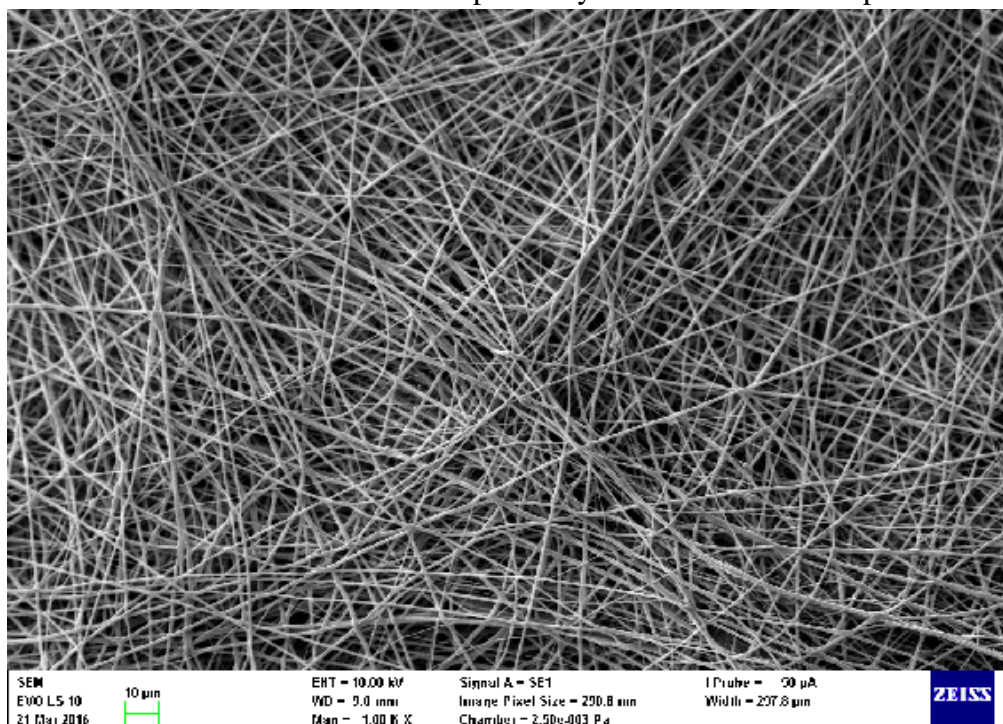
- Příloha 1 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 1% DiCh bez přídavku TEABu
- Příloha 2 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 3% DiCh s přídavkem TEABu
- Příloha 3 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 5% DiCh s přídavkem TEABu
- Příloha 4 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 1% chloroformu s přídavkem TEABu
- Příloha 5 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 3% chloroformu bez přídavku TEABu
- Příloha 6 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 3% chloroformu s přídavkem TEABu
- Příloha 7 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 5% chloroformu s přídavkem TEABu
- Příloha 8 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 2% PHB v chloroformu vytvořené na rotačním spinneru
- Příloha 9 – Snímky nanovláken s přídavkem 0; 0,1; 1; 3; 6; 9; 12 a 15 hm. % pentaerithriolu triakrylátu, neozářená UV
- Příloha 10 – Snímky nanovláken s přídavkem 0; 0,1; 1; 3; 6; 9; 12 a 15 hm. % pentaerithriolu triakrylátu, ozářená UV

10. Přílohy

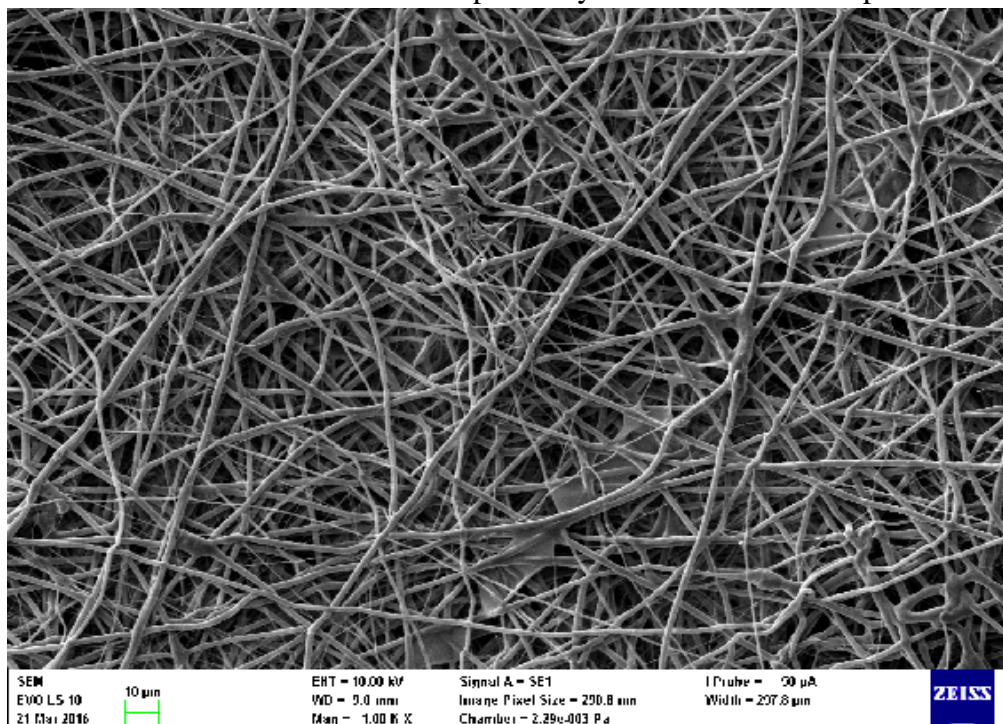
Příloha 1 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 1% DiCh bez přídavku TEABu



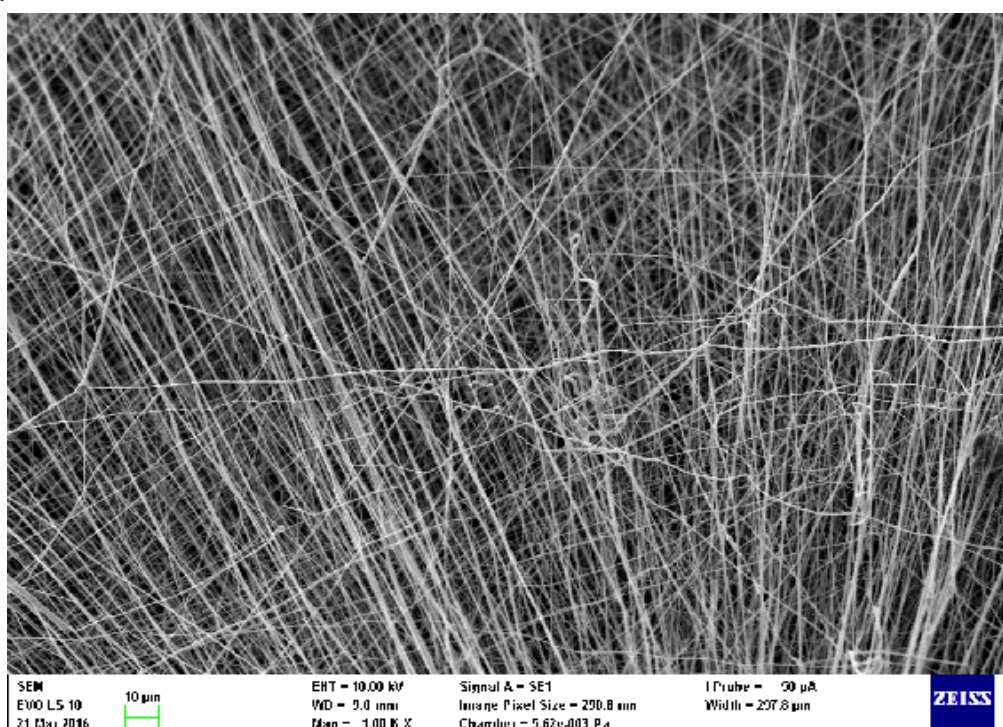
Příloha 2 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 3% DiCh s přídavkem TEABu



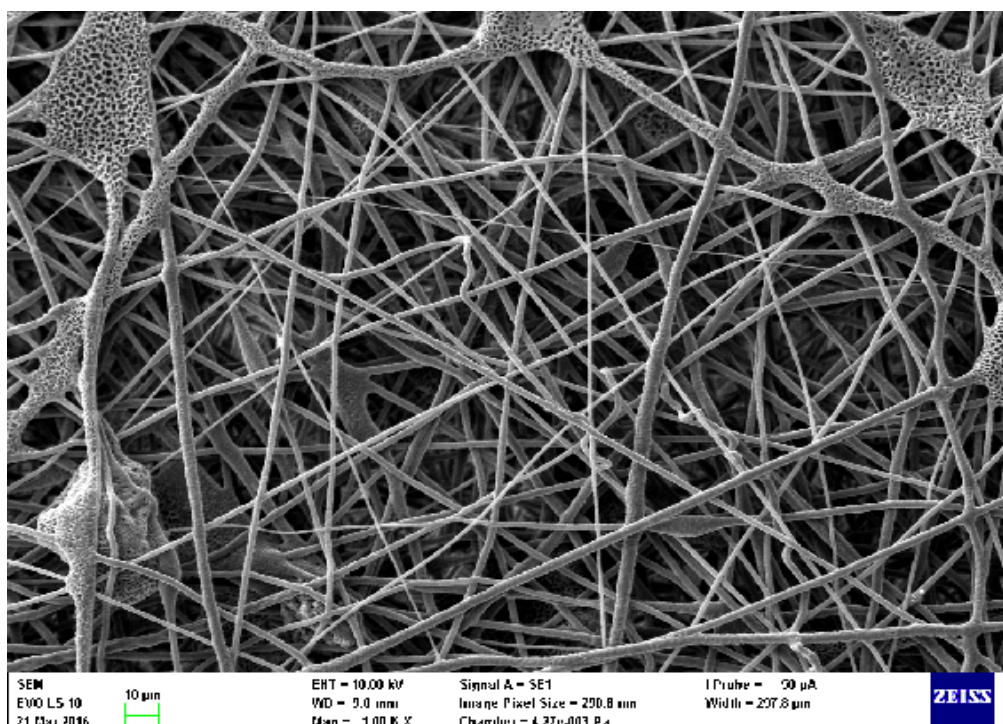
Příloha 3 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 5% DiCh s přídavkem TEABu



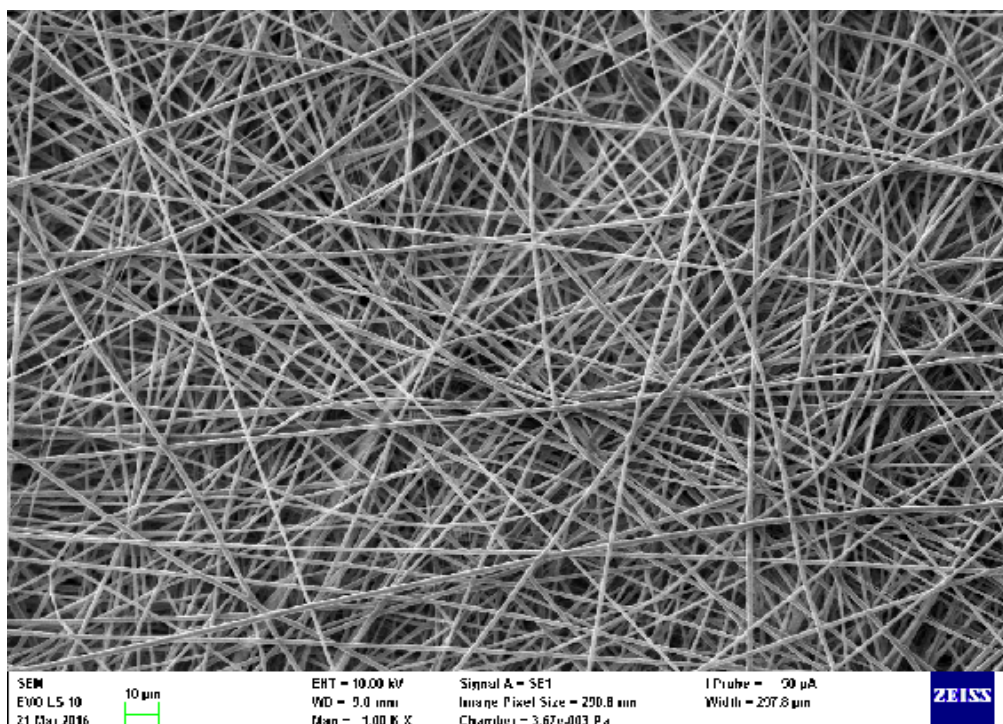
Příloha 4 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 1% chloroformu s přídavkem TEABu



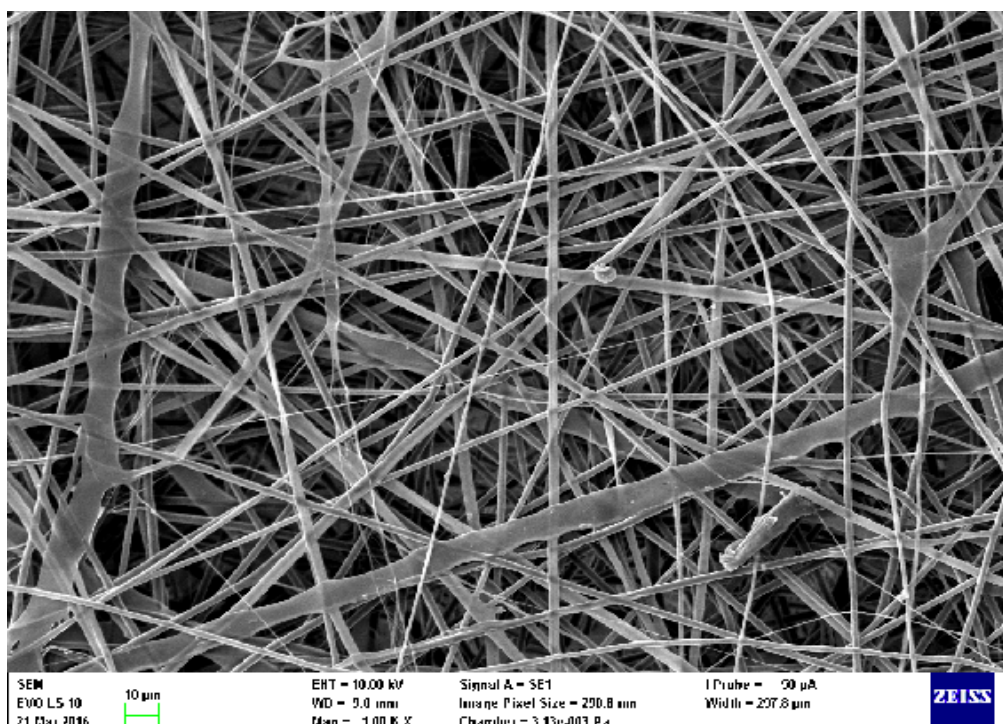
Příloha 5 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 3% chloroformu bez přídavku TEABu



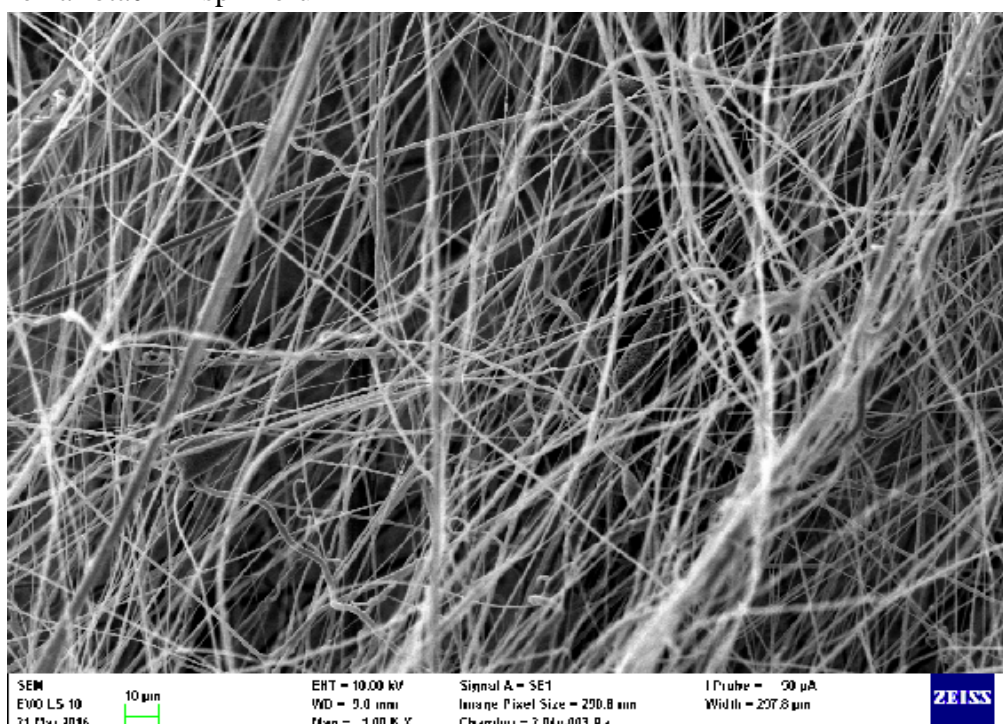
Příloha 6 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 3% chloroformu s přídavkem TEABu



Příloha 7 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 5% chloroformu s přídavkem TEABu



Příloha 8 – Snímek elektronového mikroskopu vrstvy roztoku 2% PHB v chloroformu vytvořené na rotačním spinneru



Příloha 9 - Snímky nanovláken s přidavkem 0; 0,1; 1; 3; 6; 9; 12 a 15 hm. % pentaerithriolu triakrylátu, neozářená UV



Příloha 10 - Snímky nanovláken s přidavkem 0; 0,1; 1; 3; 6; 9; 12 a 15 hm. % pentaerithriolu triakrylátu, ozářená UV

